DAS 软件用户手册

（正在编写中，不断更新，请经常上网下载）

技术支持：

201203 上海 浦东 张江，郑青山 教授

021-51323006，13817078595

Email: drugchina@21cn.com

升级与购买：

查询网站 http://www.drugchina.net

联系人：刘红霞 老师

电话：021-51323006，15921008232

传真：021-51322750

Email: drugchina@21cn.com

目录

一般信息……4
关于 DAS……4
重要提示……4
疑难数据处理……4
生物等效性分析……4
试验设计……4
加权标准曲线……4
药动学参数……4
实测值计算……4
参数计数……5
相对生物利用度 F……5
错误与分析……6
药代动力学……6
药动学参数……6
CL/F、V/F 和 CLz/F、Vz/F……7
半衰期($t_{1/2}$)……7
$t_{1/2}$ 与 MRT……7
表观分布容积(V_1)……7
药动参数 0-t 与 0-∞……7
波动系数（DF）……8
时间单位……8
成批处理的模型选择……8
权重系数（W）……8
尾段斜率 Zeta……8
谷浓度与稳态……8
药动学计算的扩展应用……8
错误与分析……9
定量药理学……9
半数效量计算……9
半数效量间比较……9
MIC50 计算……9
临床药理学……9
样本量估算……9
疗效优劣分析……10
错误与分析……10
药物相互作用动力学……10
设置窗口……10
数据录入窗口……11
结果输出窗口……11
使用问答(...)……11
附件……11
药物动力学基本参数……11

非房室模型的统计矩分析..14
药物相互作用分析与复方药效模拟..15
权重配方法介绍 26
药物相互作用反映曲面分析 35
临床 EC50 计算 39

一般信息

关于 **DAS**

- 产地与发行单位：外刊发表论文时，需提供。发行单位请写：
  Mathematical Pharmacology Professional Committee of China
  产地：Shanghai，China
- 为大型药理学专业软件，提供与基础药理学、临床药理学及其相关领域的定量分析，国内将这一学科称为“数学药理学”或“定量药理学”，与国外称谓相近，如“quantitative pharmacology”或“pharmacometrics”
- 由于内容在不断扩展，算法在不断改进，故升级版不断推出，请注意升级信息

重要提示

- 系统正从 1.0 版全面升级至 2.0 版的过程中,部分功能尚未加入，将陆续增加，免费升级，建议用户应经常上网查看有无最新版本，以便及时更新。
- 系统通常有三个窗口：录入窗口，设置窗口，结果窗口
- 下文中，方括号[ ]内的文字为按钮，如[实例]，[运行]
- 录入窗口先请**仿实例录入!!!** 即先在菜单中选择功能，出现录入窗口后，按菜单栏下的[实例]，将会显出实例的数据，再按[运行]，将在结果窗口显示结果

疑难数据处理

- 疑难数据由专业人员方可分析，可及时与我们联系，简单计算将免费服务。用户只要涉及数理分析的需求，请提供文献，编制小组将尽可能地满足您的要求
- 需长文介绍的内容，将以附件形式呈现

生物等效性分析

试验设计

- 二交叉，试验例数必需是 2 的倍数，设计上，缺失 1 例等同缺失 2 例
- 简化三交叉，试验例数必需是 3 的倍数，设计上，缺失 1 例等同缺失 3 例
- 完全三交叉，试验例数必需是 6 的倍数，设计上，缺失 1 例等同缺失 6 例
- 简化四交叉，试验例数必需是 4 的倍数，设计上，缺失 1 例等同缺失 4 例
- 完全四交叉，试验例数必需是 24 的倍数，设计上，缺失 1 例等同缺失 24 例

加权标准曲线

- x 为自变量，如加入的浓度
- y 为因变量，如测得的浓度，或峰面积，或峰高

药动学参数

- 主要分析参数：AUC_{0-t}，$AUC_{0-\infty}$, C_{max}，T_{max}
- 由于 C_{max} 和 T_{max} 更易受采血布点影响，如故时间点设置应合理。
- 为简洁，系统中 AUC_{0-t} 有时用 AUC_t 表示，$AUC_{0-\infty}$用 AUC_i 表示
- 相对生物利用度 F 分为个体 F，平均 F 和总体相对 F（见相对生物利用度 F）
- t1/2 由 3-5 尾点 c-t 数据的最大相关系数的直线回归斜率（Zeta）计算所得，但要求回归至少包含最后 2 点浓度中的 1 点。由于分析意义不大，新版 DAS 将此删除

实测值计算

- 按［实例］按纽，调出数据，点击菜单栏［运行］按钮以熟悉操作和输入要求。

- 设置中 [A:R 剂量比] 指试验药（A）和参比药（R）的剂量比，如 A 药 10mg，R 药 5mg，则 [A:R 剂量比] 填 2。
- 受试者编码：可用字母、数字或汉字（1，2，3,A，B，C，A1，A2，A3 等）。
- 药物编码：系统默认 R 表示参比药，A、B 表示试验药。不能用其他字母，如试验药不能用 T。
- 周期编码：根据交叉数相应输入 1，2，3，4，分别表示周期 1，2，3，4。
- 等效标准系统默认 AUC (对数值)为 80%-125%；C_{max} (对数值)为 70%-143%。但注意，为便于计算，浓度数据最好不要过小，如尽可有使峰浓度大于 1，可变换浓度单位实现，如将 mg/L 变换成 ug/L。
- T_{max} 用实测值，可选用 70%-130%仅用于群体生物利用度（PBE）分析。
- 录入时先完成设置窗口的设置，请按 [实例数据录入窗口将显现蓝格，根据各列的要求，在蓝格内填入数据。建议出现蓝格后，按录入窗口上方的 绿 X 图标 导出至 EXCEL，在 EXCEL 完成录入，再拷贝至输入界面，按 [运行] 按钮即可。结果输入至 EXCEL 表格。
- 数据低于检测线下限（LLOQ）的浓度不宜输入，但数据起始点建议增加一个 0 时间点，其对应的浓度均为 0。因为不同研究中，其起始采血点可能不同，此处理可增加 AUC 计算的可比性
- 空缺浓度数据可填写“ND”或置空
- 多次给药时，τ表示给药间隔。如缓释控释制剂（A）给药间隔和用药剂量与常规制剂（R）的剂量和间隔不同，采样时点相同，设置时应注意。例如，缓释控释制剂一次口服 10 mg，给药间隔时间为 12h，而常规制剂为一次口服 5 mg，每 6h 一次。则剂量比 A:R 为 2，而 A 药τ=12，R 药τ=6。
- 多次给药时，给药间隔τ不同，采样时点不同，建议先算出各药的药动学参数，再用菜单中 [参数计算] 功能作等效性分析。例如，某次二交叉药物，给药间先将同一周期的受试者复制一份，复制的受试者编号变更（R，A 或 B），计算出药动学参数。
- 多次给药三次谷浓度如提示达稳态，则以最后一次谷浓度作为 c-t 曲线的 0 时浓度，另 2 次谷浓度时间分别(0–τ)和(0–2τ)，均为负值。A 药和 R 药不同时，作图时此处不对，需对 c-t 曲线图作调整。与 0 时浓度对应的 τ 时浓度不宜缺失。

参数计数

- 等效标准系统默认 AUC (对数值)为 80%-125%，C_{max} (对数值)为 70%-143%，T_{max} 用实测值，可选用 70%-130%仅用于群体生物利用度（PBE）分析。
- 两药采血点时间不同，或平行设计可先计算出相关药动学参数，再拷贝进本功能录入窗口，即可作等效性分析。

相对生物利用度 **F**

- 输出结果中有多个生物利用度 F（%），例如，每个个体均有一个通过 AUC_{0-t} 求出的 F(%)，还有一个通过 $AUC_{0-\infty}$ 求出的 F(%)，另外分别尚有一个平均值。这些数据均为实测值所获得。
- 真正的总体相对生物利用度有 2 个，分别通过 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 求得。系统输出如下表所示，为对数值获得。

等效性分析(ABE):[1-2α]置信区间法(A:R)

	数值	结论
总体相对 F(%)	101.8%	

等效标准	80.0%～125.0%	
置信区间	96.0%～107.9%	合格

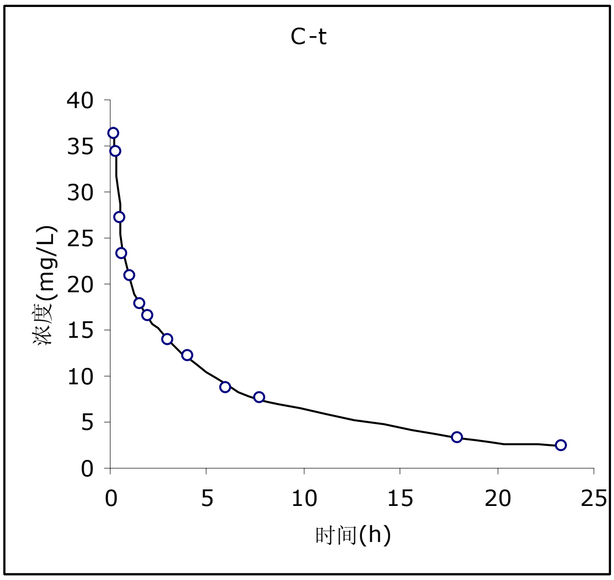
错误与分析

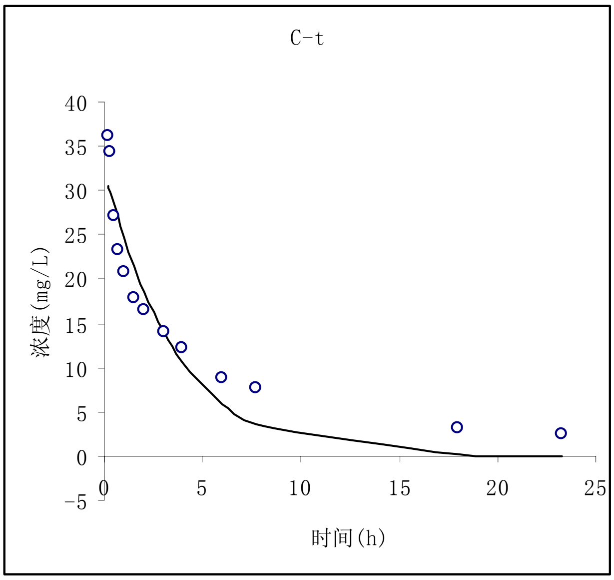
- 浓度数据很低时，如用对数转换会出现负值，故将数据变大，通过转换单位实现。如将 mg/L 变成 ug/L；或不用对数变换。
- 双向单侧 t 检验与区间估计法（或置信区间法）是一种方法的两种表达，如果结果不一致，表示计算出错。请检查输入数据是否正确。
- 严格来说，生物等效性试验也需作样本量估算，有时不等效是样本量不够所致。

药代动力学

药动学参数

- 系统提供两套药动学参数：房室模型参数和统计矩参数（非房室参数）。
- 如果数据模型拟合很好，表现为实测值 c-t 图的实测点与拟合线吻合较好，可用肉眼直接判断（见下图）。此时可任选一套参数，或两套均提供。
- 如果拟合不好，或房室模型参数和统计矩参数相差很大，建议选用统计矩参数。
- 主要参数：$AUC_{0\text{-}t}$，$AUC_{0\text{-}\infty}$，消除 $t_{1/2}$，CL，V_1，C_{max}，T_{max}
- 其他为次要参数，分析报告中次要参数可不提供。





与下图相比，上图拟合较好

CL/F、V/F 和 CLz/F、Vz/F

- 系统输出参数加 z 者均为统计矩参数，如 CL/F、V/F 为房室模型参数，CLz/F、Vz/F 为统计矩参数
- F 为生物利用度，系统不提供此值，默认其为 1（100%）。如 F 已知，则计算所得的参数应除以 F

半衰期($t_{1/2}$)

- $t_{1/2}$ 有多种如吸收 $t_{1/2Ka}$，消除 $t_{1/2}$，分布和消除混合的 $t_{1/2}$。由于吸收时采样点较少，因此 $t_{1/2Ka}$ 难以准确计算。其中以消除 $t_{1/2}$ 最为重要，就是通常所称的半衰期。
- $t_{1/2z}$ 为按统计矩方法求算出来的消除 $t_{1/2}$。$t_{1/2z}$=0.693/Zeta，Zeta 为 c-t 曲线尾段斜率
- 静脉给药无吸收 $t_{1/2Ka}$，只有非静脉给药才有吸收 $t_{1/2Ka}$
- 一室模型消除半衰期表示为 $t_{1/2}$
- 二室模型有 $t_{1/2\alpha}$、$t_{1/2\beta}$，后者为消除半衰期
- 三室模型有 $t_{1/2\alpha}$、$t_{1/2\beta}$、$t_{1/2\gamma}$，$t_{1/2\gamma}$为消除半衰期
- 统计矩 $t_{1/2z}$ 为消除 $t_{1/2}$

$t_{1/2}$ 与 MRT

- $t_{1/2}$ 表示体内药物下降 50%所需的时间
- MRT 表示药物在体内平均驻留时间，故 MRT 大于 $t_{1/2}$
- 均为时间参数，但 $t_{1/2}$ 表达更直观，也更精确，故更重要

表观分布容积(V_1)

- 过去因为计算机和程序缺乏，多用一室模型计算。故表观分布容积只有一个，用 V_d 表示。
- 当前技术已能计算出每个房室的表观分布容积，如三室模型可能 V_1,V_2 和 V_3。其中 V_1 最为重要，V_2 和 V_3 意义较小。故系统只提供中央室 V1 的结果。

药动参数 0-t 与 0-∞

- 部分药动参数有 0-t 与 0-∞之分，如 AUC，MRT，表达时应有所区分
- MRT 不标注时表示 MRT_{0-t} 和 $MRT_{0-\infty}$ 相近

波动系数（**DF**）

- $DF=(C_{max} - C_{min}) / (AUC_{ss} /\tau)$
- τ为用药间隔时间

时间单位

- 时间单位为 min（分）, h（小时）, d（天）
- 时间的数值不能过大，如 2014h，需要除以 24，改时间单位为 d，否则会出现 CL 等过小或为 0 的情况

成批处理的模型选择

- 成批处理的受试者所用剂量应相同，并使用相同房室模型（房室数），但权重系数可以不同。选择房室数的方法有以下三种方法。
- 方法 1：用智能化分析算出每个受试者的最佳房室数，以多数者的房室数为准。
- 方法 2：以文献为准。
- 方法 3：计算每个血药浓度的平均值，以时间和平均药浓算出房室数，以此作为成批处理的房室数。前提是此时的 c-t 曲线在峰浓度处无平台产生，否则不能按此法处理。

权重系数（**W**）

- 权重系数根据 c-t 拟合曲线与实测浓度点的吻合程度来定。W 有三种选择：W=1（实际上为不作权重处理），W=1/C（系统也可用 W=2 表示，使用较少），W=1/CC （系统可用 W=3 表示，实为 $1/C^2$)。
- 在成批数据处理时，有可能一部分受试者使用 1，另一部分受试者使用 1/CC。
- 权重系数选 1/CC，拟合时重视尾端点，以纠正拟合曲线与药浓尾点偏离太多。由于尾点浓度较低，检测误差较大，也有不足。如出现半衰期过长等。
- 静滴给药的停滴时间，系统默认为最高浓度所对应的时间点。
- 智能化模型输出结果 1 和 2 供用户选择，可根据图中拟合线与实测点的吻合程度选择
- 成批处理数据，先以权重系数为 1 进行计算，根据输出的图形和拟合结果判断房室数和权重设置是否合理。对图形拟合不满意者，改选权重系数为 3（1/CC）。

尾段斜率 **Zeta**

- 在对数 c-t 曲线尾段 5 对数据点中，以 3-5 对作直线回归，共有 15 种组合，每种组合至少必需包含最后两点中的任一点，相关系数最大者的斜率（绝对值）为 Zeta。
- 15 组合，按 c-t 曲线上时间由大至小的顺序，即为 123，124，125，134，135，145，234，235，245，1234，1235，1245，1345，2345，12345。

谷浓度与稳态

- 多次给药在达峰前的谷浓度测定，往往有多个数据，3 个谷浓度相差不大于 10% 时认为已达稳态。在输出图中只显示最后一个谷浓度（0 时）,其他谷浓度不参与计算，但作为新药报批时，此数据将有参考价值。

药动学计算的扩展应用

- 药动学主要用于血药浓度与时间（c-t）数据的计算
- 常有人扩展药动学，使之用于具有屏障的区域浓度，如脑脊液浓度、眼内浓度、脑内浓度等，从原理上具有可行性，但需同时血药浓度。计算通常需专业人员完成。
- 主要从尿液排泄的药物，或血药浓度难以准确测定（如血钾等）的药物，尿药浓度测定药动学参数具有一定价值，特别是尿排率、尿排总量和半衰期。

错误与分析

- CL 等过小或为 0：
  时间-浓度数据中，如时间数据过大，导致 CL 等参数过小或为 0。应调整时间单位，如改 h 为 d
- 权重系数选择不当：
  成批处理时，所有受试者房室数权重统一，部分受试者结果不好。应调整这些受试者的权重系数，例如，将 1 改为 3，或 3 改为 1。
- 多个受试者结果完全相同：
  数据或设置不当，导致拟合失败，结果以计算的过程值表示。应检查设置，如"静滴"按"静注"计算；非静注给药时，首点浓度过高。

定量药理学

半数效量计算

- 请仿实例录入
- 半数效量包括 LD50，EC50，ED50，IC50 等多种，标准计算方法为 Bliss 法(probit analysis)，例如 ED_{50} 和 LD_{50} 计算完全相同。但 MIC50 计算有所不同（见下）
- 具体计算数据可分为：成组阳性数（如实例中 LD50 计算）和累积阳性数（附件中 EC50 计算）
- 多个剂量（或浓度）水平，但个剂量受试者数量有限，如临床麻醉 EC50 计算，需变换数据，详见附件麻醉药临床 EC50 计算

半数效量间比较

- 两种方法列出供选择：比较两药 LD_{50}（或 ED_{50}）；比较两药剂量与毒性发生率的量效回归线是否平行
- 需输入四个参数，在 Bliss 法计算中均可显示
- L_{95} 可用 LD_{50}（或 ED_{50}）的 95%可信区间上下限之差再除以 2 获得，如可信限为 10 – 20，则此处的 $L_{95}=5$
- Bliss 法回归线不平行（$P<0.05$），表示两药的毒性作用机理或部位明显不同。但平行也不一定说明两者毒性作用机理完全相同
- ED_{50} 和 LD_{50} 计算完全相同

MIC50 计算

- MIC 频数：指同一浓度测定为 MIC 的数目；可 MIC_x 中输入任意>0 的数值(x)，如为 80，表示用户想求得 MIC80；一次只能计算一个药物的结果
- MIC 原始值：可同时录入多个药物实验原始值；菌种请编号（如 1,2,3....）
- 如果以 MIC 原始值计算，其重复数达到 10 方可进行 MIC_{50} 和 MIC_{90} 测定，否则只列出其范围即 MIC_R（最小值与最大值区间）

临床药理学

样本量估算

- 疗效优劣分析（优效、等效、非劣效）应具有先期研究或文献报道作为参考，理应选择单侧检验，其中等效检验为两个单侧检验
- 一般α=0.025-0.05(EMEA 推荐单侧检验时取 0.025)，β=0.1-0.2。
- δ为优劣效界值，指具有临床意义和统计学意义的差别之和，由临床专家和统计学共同制定，注意参考预先的试验结果和相关文献资料
- 推荐将以下两种方法结合使用，确定适当的样本量。用何种方法做的样本量估算，应在研究方案中明确说明，结果也将用相应的方法作统计分析
- 公共标准差=$[(SD_1^2+SD_2^2)/2]^{0.5}$
- 假设检验法：如对试验组药效未知时，将试验组（T）与参比组（R）预计的平均疗效（均数或平均率）填入设置窗中，而将 T 组和 R 组均数（或率）空置。参考文献：郑青山，孙瑞元，陈志扬. 新药临床试验样本估计的简捷算法和等效标准探讨.中国新药杂志 2003；12(5): 368-371
- 计算机模拟法：如已有预试验或文献资料，可完整地填写 T 组和 R 组预期疗效。可对预计进行试验的样本量，进行 Monte Carlo 模拟，进一步确定相应的β值(1-β为把握度 Power)。根据已有的信息，对试验过程中变异因素有所考虑估计，结果更为可靠。把握度 Power 应达到 80%以上，故设置窗口中，β值应为 0.1-0.2。
- 模拟次数，计量资料不少于 100 次，计数资料应不少于 200 次，常达到 500 次。
- 模拟结果中，Power 的 95%CI 如包含预设的 Power，说明已达到要求；如 CI 的低限超过预设的 Power，说明已超过此要求。

疗效优劣分析

- 疗效优劣性分析包括：非劣效试验，等效性试验，优效性试验。传统的差异性检验未列入
- ICH 提倡非劣效/等效试验用可信区间法
- 优效性试验是将统计学要求与专业要求相结果，事先确定优效标准δ，并将δ纳入统计公式中，$P<0.05$ 就可表明试验组优于对照组

错误与分析

- 例数估算如按单侧检验进行，FDA 和 EMEA 通常要求α取 0.025，即相当于双侧检验，样本量较单侧多

药物相互作用动力学

设置窗口

- 请先用实例熟悉其设置
- [显著水平]通常选 0.05, 0.01, 0.1，用于水平 1 和水平 2 间的正交 t 检验分析。配伍组间两两比较显著水平为 0.05
- [两水平定义]有两种选择，一是"1 水平用药，2 水平不用药"，二是"1 水平高剂量，2 水平低剂量"
- [无作用区间]以 2 水平的平均值作为参照，取其±10%-20%作为置信范围（θ）。由双向单侧 t 检验算出两水平差值的可信区间（CI），此区间职超过以上置信范围，表示两水平间不等效。置信范围（θ）越宽，则越易得出两水平无差异的结论。如果θ=0，则用双侧 t 检验（等同传统的方差分析）提供结果
- [实测值计算]要求以数据录入窗口输入原始数据，看实例格式
- [统计量计算]要求以数据录入窗口输入例数、均数和标准差，看实例格式
- [自定义组方]指用户在原组方中自行输入一个组方，如在 6 味的原组方（ABCDEF）中，希望了解 A1B1C2 三味药的药效，则输入 A1B1C2 即可

数据录入窗口

- 第 1 列为组号，第 1 行为受试者编号
- 各配伍组重复数据可不等

结果输出窗口

- 第 1 个表中，第 2 列为设计方案，ABC 等为药味名，1 和 2 为各组相对应的水平数
- 本法主要用于分析大组方，结果不考虑交互影响
- 输入窗口提供了部分组方方案及其预测结果，其中包括最大效应组合，最小效应组合
- 如希望获得某种组合的预计效应，请在设置窗口内自定义
- 方差分析目的是为正交 t 检验提供剩余方差，其用药水平间比较结果仅供参考，最终结果以正交 t 检验的结论为准
- 预测结果评价
  实测值与预测值相关图：两者相关且靠近对角线对称分布，则预测好
  PE%=（实测值-预测值）/实测值×100：PE%在靠近 0 值附近分布，则表示预测好

使用问答(...)

1. 在多次给药运算中，达峰稳态的 3 天（通常是 4、5、6)的数据是否输入与第 7 天连续多个采血数据在一起运算？我把它们以-72、-48、-24h 时间输入数据，但运算结果中 c-t 图曲线没有它们三个点。
2. 药代中的房室数，权重的确定依据是什么？特别是在没有文献参考的情况下。
3. 运算结果中主要的参考数据是哪些？对该参数有没有要求？
4. 我的实验是考察某药物的累积排泄率。我想用尿药速率法处理数据。我遇到的问题是：有部分受试者的某些时间段的尿药浓度未检测到，这样在用 DAS 软件处理数据时所计算出的半衰期就很异常，请问这种情况下，源数据库应如何编写？有未检测到浓度的受试者的数据应如何处理呢？
5. 请问可以应用 DAS 软件来处理多次给药的尿药浓度的数据吗？我在界面上看到的只有单次给药的尿药速率法。
6. 我的实验是考察某药物的累积排泄率。我想用尿药速率法处理数据。我遇到的问题是：有部分受试者的某些时间段的尿药浓度未检测到，这样在用 DAS 软件处理数据时所计算出的半衰期就很异常，请问这种情况下，源数据库应如何编写？有未检测到浓度的受试者的数据应如何处理呢？
7. 请问可以应用 DAS 软件来处理多次给药的尿药浓度的数据吗？我在界面上看到的只有单次给药的尿药速率法。
8.

附件

药物动力学基本参数

1. 生物半衰期（$t_{1/2}$）

生物半衰期(Biological half-life, $t_{1/2}$) 通常是指某一药物浓度减少一半所需要的时间。这个参数只是由测定血浆或血清浓度的衰变来求出，更确切地称为表观血浆(或血清)半衰期。表观血浆半衰期可用消除速率常数(Ke)来计算：

$t_{1/2}=0.693/K_e$

2. 表观分布容积(V_d)

表观分布容积(Apparent volume of distribution, V_d) 是给药剂量或体内药量与血浆药物浓度间相互关系的一个比例常数，不具有直接的生理意义，在许多情况下也不涉及真正的体积。V_d 可下定义为药物分布在相等于其在血浆中的药物浓度时所占体液的体积。根据这个定义可以假设，对药物而言， 人体是"单一的均匀的小室"。 在二室开放模型中，此概念只适用于分布后相的药物浓度。分布容积这一概念是假定药物与各组织成分与体液的相对结合程度和药物浓度无关。在此情况下，体液与组织中药物浓度之比是一常数。因此，药物血浆浓度(C)与体内药量存在以下关系：

$$A=V_d \times C$$

V_d 也可以用以下方法之一来计算：

$$V_d=A_{iv}/C_0$$

或

$$V_d=A/(AUC \times K_e)$$

利用面积来计算 Vd 的优点在于其不需考虑模型问题。这个参数的数值是药物的一个特性参数。

3. 体内总清除率(*TBCL, CL*)

体内总清除率(Total Body Clearance, *TBCL*)是一个重要的参数，其定义为单位时间内从体内清除的表观分布容积(Vd)部分。它比表观血浆半衰期更有意义，因其是由整体清除率或消除机理推导出的。体内总清除率(*TBCL)* 等于代谢清除率加肾清除率。*TBCL* 是能够对药物清除率得出正确的估算的唯一参数，此值的另一个好处是与模型无关，因为可用下式求得：

$$TBCL=A/AUC$$

4. 血药浓度时间曲线下的面积(*AUC*)

血药浓度时间曲线下的面积(area under Concentration-time curve, *AUC*) 是指血药浓度数据对时间作图所得的曲线下面积。它可由积分求得，最简便的计算方法是用梯形法求得,也可用样条函数法求得。它对计算药物动力学参数很有用处,从给药开始到给药 t 时间的面积用 $AUC_{0\text{-}t}$ 表示，从给药开始到 $t=\infty$时间的面积用峴 $AUC_{0\text{-}\infty}$表示。它是计算药物绝对生物利用度和相对生物利用度的基础数值。

5. 生物利用度(*F*)

生物利用度(Bioavailability, *F*)此名词可解释为某一药物的吸收程度。它可通过比较静脉和口服给药后血药浓度或尿药浓度测定后数值来计算。对于同一个体可假设其 Ke 值与 Vd 值保持不变，并假设静脉给药后全部药物可被利用(100%)，则上述比较是可行的。因为药量(A)为：

$$A=K_e \times Vd \times AUC$$

在静脉和口服给药剂量相同时，

$$F=[A_{oral}/A_{iv}] \times 100\%$$

用(7-2-13)式中的 *AUC* 代替(7-2-14)式中的 A，则

$$F=[AUC_{oral}/AUC_{iv}] \times 100\%$$

对尿药(A_u)数据：

$$F=[A_{u(oral)}/A_{u(iv)}] \times 100\%$$

在静脉和口服剂量不同时，

$F=[D_{iv}\times AUC_{oral}/D_{oral}\times AUC_{iv}]\times 100\%$

在用一标准制剂与一试验制剂进行生物利用度检验时，可用下式计算试验制剂的相对生物利用度(Fr)

$Fr=[D_{standard}\times AUC_{test}/D_{test}\times AUC_{standard}]\times 100\%$

6. 平均稳态血药浓度（$C_{av(ss)}$）

在恒定给药间隔重复给药时，产生一个"篱笆"型的血药浓度曲线，在恒定的时间间隔内，规则地给予固定的药物剂量，血药浓度水平(或体内药物浓度水平)达到稳定状态，此时任一剂量间隔内浓度-时间曲线都相同。在此情况下， 摄入体内的药量等于消除的药量。从理论上说，假设药物完全吸收或全部被利用，在给药的时间间隔等于生物半衰期时，则经过相当于 4 个半衰期的时间后药物浓度水平趋于稳态，6 个半衰期的时间后达到稳态。在此情况下,不会发生积蓄现象，但服药时间间隔小于半衰期时就容易产生积蓄作用。平均稳态血药浓度 (Average steady state concentration, $C_{av(ss)}$)为达到稳态时的平均药物浓度，Wagner 等提出下式作为崐评价任何给药途径给药在稳态时的平均稳态药物浓度：

$C_{av(ss)}=AUC/\tau$

或

$C_{av(ss)}=FD/(K_e\times V_d\times\tau)$

式中 τ 为两次给药的时间间隔，AUC 为血药浓度时间曲线下的面积， F 为剂量吸收的分数(生物利用度)，D 为给药的剂量。

当药物被全部吸收时，如果给药时间间隔低于半衰期的 1.4 倍时， 则药物将在体内积蓄，积蓄比(R_a)如下式：

$R_a=(1.4t_{1/2})/\tau$

积蓄比可定义为在稳态条件下体内药物的平均量超过以单剂量给药时体内平均药量的倍数。

对某一药物来说，用式(12)可确定为使获得一理想的近似平均血药浓度所需的时间间隔值，因为

$\tau=AUC/C_{av(ss)}$

8. 首过效应

在口服给药时，药物到达体内循环前，必须通过肝脏。因而在首次通过肝脏的过程中，有相当大的一部分药物可被肝脏代谢或被肝组织蛋白结合。这样，进入体循环的药量将少于吸收的量。因此，口服药物后的 AUC 比静脉的要小，在此情况下,未改变药物进入体循环中的程度可视为系统生物利用度。首过效应的幅度(R)可根据 Gibaldi 等的公式来计算：

$R=1-D_{iv}/(AUC_{iv}.Q)$

或

$R=Q/[Q+(D_{or}/AUC_{or})]$

式中 R 为口服的 AUC 与静脉的 AUC 之比，Q 为血流通过肝脏的流速。因为不需用静脉给药的 AUC，因此，只有证明口服完全吸收的药物，才能用此式。

非房室模型的统计矩分析

非房室模型的统计矩计算不需要对药物体内处置设定专门的房室，只要药物体内过程符合线性动力学，不论其属于何种模型，均可用本法处理数据。

血药浓度时间过程可以认为是一随机的分布曲线，不论给药途径如何， 均可定义三个统计矩：

1. 零阶矩

血药浓度从 0→∞时间的积分

$AUC=\int cdt$

2. 一阶矩

$MRT =\int tcdt/\int cdt$

$=AUMC/AUC$

3. 二阶矩

$VRT=\int t2cdt/\int cdt$

$=\int (t-MRT)^2 cdt/AUC$

式中，*MRT* 为体内平均驻留时间，*VRT* 为平均驻留时间方差。*AUMC* 是 *AUC* 与时间 *t* 的乘积。

应用零阶矩可以计算生物利用度和清除率，应用一阶矩计算半衰期和消除速率常数：

$t_{1/2}=0.693MRT_{(iv)}$

$K_e=1/MRT_{(iv)}$

还可以应用血管外给药(如肌注 im)和静脉给药(iv)的 *MRT* 的差 *MAT* 计算吸收速率常数和半衰期：

$MAT=MRT_{(im)}-MRT_{(iv)}$

$K_a=1/MAT$

$t_{1/2}=0.693MAT$

药物相互作用分析与复方药效模拟

前言

复方治疗中西药均有，如 HIV/AIDS 治疗（鸡尾酒疗法）和中药方剂配伍等，奥妙在于组分相互作用（协同、拮抗等），药效学上表现为药效增强，毒性降低，起效时间互补，药效范围扩展；药动学上表现为 AUC、C_{max} 和 T_{max} 变化等。在设计上，药动学相互作用，特别是临床研究，多采用固定序列设计（the fixed- sequence design）[1]，用双向单测 t 检验[2]分析单用和联用的 AUC 和 C_{max} 数据，结论可满足统计学和临床的实际需求。该法甚为合理，广泛公认，也被 FDA 认可[3]，其他设计反而较少[1]。

药效学相互作用研究理应参照药动学方法进行，正交设计配合方差分析是常用方法之一，而适当的正交设计属于特殊类型的固定序列设计。本研究就此安排正交设计，引入双向单侧 t 检验进行分析，确定各组分对复方药效的影响，排列其重要程度，区分协同与拮抗成分，并进行不同组合的效应预测。

方法

实验设计

1．正交设计：采用 2 水平的正交设计或近似正交设计即可，具有灵活性，但与以下设计相比，样本量较大。

2．约束条件的正交设计：从正交设计中选用 $L8(2^3)$、$L8(2^4)$、$L12(2^5)$和 $L12(2^6)$，两水平为：1 水平"使用"，2 水平"不使用"。在 8-12 个配伍组中，每个组分在半数组别中使用，另半数组别不使用，这与固定序列设计相似。各组分配伍的数目彼此相同，例如第 1 组为 1 水平组合，最后一组由 2 水平组合（阴性对照），形成完全对称排列，即"水平均衡，组合对称"（表 1）。为便于理解，表 1 的设计表也可写成表 2 和表 3 的形式。此设计严谨，动物实验样本量通常 40-60 例，临床研究只要药效基线（阴性对照）明确，一般 60-120 例就可获得重要结果。

按此设计，每次实验可分析 3-6 个组分的复方，超过 6 组分的复方，可分次实验：先固定一部分组分的用量，使其作为背景，获得结果后再重新研究未考察的组分。特别是临床研究中，可固定一些无需分析的组分，将重点放在有待研究的组分上。例如中医方剂可固定基本方，只考察需增减的药味。

表 1　正交设计（数字表示法）

配伍组	3 组分 $L8(2^3)$ ABC	4 组分 $L8(2^4)$ ABCD	5 组分 $L12(2^5)$ ABCDE	6 组分 $L12(2^6)$ ABCDEF
1	111	1111	11111	111111
2	112	1122	11122	111222
3	122	1212	11222	112212
4	121	1221	12112	122121
5	211	2112	12211	122211
6	212	2121	12221	121122
7	221	2211	21121	211221
8	222	2222	21212	212121
9			21211	212112
10			22112	221112
11			22121	221211
12			22222	222222

字母为组分名称，水平 1 表示使用，2 表示不使用

表 2　正交设计（下标表示法）

配伍组	3 组分	4 组分	5 组分	6 组分
1	$A_1B_1C_1$	$A_1B_1C_1D_1$	$A_1B_1C_1D_1E_1$	$A_1B_1C_1D_1E_1F_1$
2	$A_1B_1C_2$	$A_1B_1C_2D_2$	$A_1B_1C_1D_2E_2$	$A_1B_1C_1D_2E_2F_2$
3	$A_1B_2C_2$	$A_1B_2C_1D_2$	$A_1B_1C_2D_2E_2$	$A_1B_1C_2D_2E_1F_2$
4	$A_1B_2C_1$	$A_1B_2C_2D_1$	$A_1B_2C_1D_1E_2$	$A_1B_2C_2D_1E_2F_1$
5	$A_2B_1C_1$	$A_2B_1C_1D_2$	$A_1B_2C_2D_1E_1$	$A_1B_2C_2D_2E_1F_1$
6	$A_2B_1C_2$	$A_2B_1C_2D_1$	$A_1B_2C_2D_2E_1$	$A_1B_2C_1D_1E_2F_2$
7	$A_2B_2C_1$	$A_2B_2C_1D_1$	$A_2B_1C_1D_2E_1$	$A_2B_1C_1D_2E_2F_1$
8	$A_2B_2C_2$	$A_2B_2C_2D_2$	$A_2B_1C_2D_1E_2$	$A_2B_1C_2D_1E_2F_1$
9			$A_2B_1C_2D_1E_1$	$A_2B_1C_2D_1E_1F_2$
10			$A_2B_2C_1D_1E_2$	$A_2B_2C_1D_1E_1F_2$
11			$A_2B_2C_1D_2E_1$	$A_2B_2C_1D_2E_1F_1$
12			$A_2B_2C_2D_2E_2$	$A_2B_2C_2D_2E_2F_2$

字母为组分名称，水平 1 表示使用，2 表示不使用

表 3　正交设计（字母表示法）

配伍组	3 组分	4 组分	5 组分	6 组分
1	ABC	ABCD	ABCDE	ABCDEF
2	AB	AB	ABC	ABC
3	A	AC	AB	ABE
4	AC	AD	ACD	ADF
5	BC	BC	ADE	AEF
6	B	BD	AE	ACD
7	C	CD	BCE	BCF
8	--	--	BD	BDF
9			BDE	BDE
10			CD	CDE
11			CE	CEF
12			--	--

字母表示用此组分，如 6 组分复方的第 2 组，表示用 ABC，不用 DEF

组分药效分析模型

比较各组分"使用"与"不使用"的药效变化，确定各组分的重要性，利用 2 水平时方差分析和 t 检验的关系，分析模型用式 1，即双向单侧 t 检验[2]：

H_0: $E_D \le \theta_L$，或 $E_D \ge \theta_U$

H_a: $\theta_L < E_D < \theta_U$

$$100(1-2\alpha)\%CI = E_D - t_{1-\alpha,\,df} S_e \sim E_D + t_{1-\alpha,\,df} S_e \qquad （式 1）$$

$$S_e = \sqrt{MS_e \cdot (1/n_1 + 1/n_2)}$$

表 4　药效学参数与缩写

参数/缩写	说明
NEB	无作用区间（no effect boundary），其低限为θ_L，高限为θ_U
E_D	单组分药效贡献值，即某一组分的 1 水平与 2 水平药效均值之差
E_{cut}	复方有效界值
CI	E_D 的可信区间
E_{obs}	个体实测药效
E_{com}	复方预测效应
E_{max}	最大预测效应

E_{min}	最低预测效应
E_{grp}	配伍组实测效应均值
E_{int}	交互效应
Q	相互作用指数，Q>0 为协同，Q<0 为拮抗，Q=0 为相加
E_{mix}	同向偏离效应，即对ΣE_{Di}的同向偏离，来自个体间、配伍间和组分相互作用
E_{base}	药效基线（baseline），即阴性对照组的平均药效
M_{1i}, M_{2i}	分别为第 i 个组分 1 水平和 2 水平药效的均值
PE	预测误差（prediction error）
$E_{obs-com}$	药效实测与预测的差值
$E_{obs-mean}$	药效实测值与其组别均数差值
RSE	相对标准误
RSD	相对标准差
N_T	接受用药的所有受试者总数，不包括阴性对照组
N	所有受试者
m	复方中的组分数
ε	计算误差和实验误差，其服从（0，σ^2）分布

1 水平(例数为 n_1)与 2 水平(例数为 n_2)药效均值之差 E_D，实为该组分对复方的贡献值，反映各自重要程度，CI 为其可信区间；MS_e 为方差分析中扣除各组分变异后的剩余误差，df 为自由度；t 值为单侧检验的统计量；NEB(θ_L, θ_U)大小，根据临床要求（clinically relevant）确定。药动学参数 AUC 和 C_{max} 分析，NEB 通常取(0.8, 1.2)，即 80% - 120%，由于数据呈对数正态分布，经对数转换后变成 80% - 125%，T_{max} 取 70% - 143%。药效学数据千差万别，样本量较大，应根据具体药物和指标确定 NEB 水平，并决定是否作数据转换。

如果 100(1-2α)%CI 落在 NEB 之间，表示拒绝 H_0，说明为无效或弱效组分。如果 100(1-2α)%CI 落在 NEB 之外，表示不拒绝 H_0，如数值大者为作用强（下同），则 $E_D>0$ 说明此为复方的起效组分；而 $E_D<0$ 为负性作用组分，为拮抗作用。检验的显著水平α通常设为 0.05，故 100(1-2α)%CI = 90%CI。

当 NEB=0 时，t 值应为双侧检验的统计量，双向单侧 t 检验变成双侧 t 检验，其结果与方差分析完全等同，但原理清晰。

$t = E_D/S_e$ （式 2）

相互作用模型

组分相互作用模型（式 3）由基线项、药效项、混合效应项和剩余项组成，可用于计算实验中各配伍组理论药效（$E_{base} + \Sigma E_{Di}$）和相互作用指数（Q）。公式中所有的缩写和注释见表 4（下同）。

$Q= E_{grp} / (E_{base} + \Sigma E_{Di}) - 1$ (Q>0 协同，Q<0 拮抗，Q=0 相加) （式 3）

$E_{int} = E_{grp} - E_{base} - \Sigma E_{Di}$ （式 4）

复方效应模型

式 4 为复方药效学模型，由基线项、药效项、混合效应项和剩余项组成，可预测不同组分复方的药效。由于多组分拆分实验工作量巨大，模拟的结果可能提供大量信息，为临床方案制定和进一步实验提供参考。

$E_{com} = E_{base} + \Sigma E_{Di} + E_{mix} + \varepsilon$ （i=1,2…m） （式 5）

$E_{Di}= M_{1i} - M_{2i}$ （式 5-1）

$E_{mix} = \Sigma(E_{obs} - E_{base} - \Sigma E_{Di})/N_T$ （式 5-2）

$E_{max} = E_{base} + \Sigma E_{Di} + E_{mix}$ $(E_{Di} > 0, i = 1, 2 \ldots m)$ （式 6）

$E_{min} = E_{base} + \Sigma E_{Di} + E_{mix}$ $(E_{Di} < 0, i = 1, 2 \ldots m)$ （式 7）

复方有效判断标准：

$\Sigma E_{Di} + E_{mix} > E_{cut}$ （$i=1,2 \ldots m$） （式 8-1）

$E_{com} > E_{base} + E_{cut}$ （式 8-2）

$E_{cut} = E_{base} \times (\theta_U - 1) + t_{\alpha, df} S_e$ （式 8-3）

$S_e = \sqrt{MS_e \cdot 2/N}$

预测偏倚评价方法

如果复方药效学模型具有预测能力，且实验指标具有被预测能力方可进行模拟预测。可选择以下 2 种视图评价预测结果。

1．$E_{obs\text{-}com}$ 和 $E_{obs\text{-}mean}$ 交点分布图：反映模拟值与各配伍组均数间关系，以全坐标系 45°分角线检验其预测结果，如交点紧靠分角线上下分布，表示复方药效学模型具有预测能力，与实验数据的群体值（均数）有关。

2．PE%分布图：PE%= (实测值 – 预测值)/实测值×100%。如各受试者的 PE%散点紧挨 0 点横坐标轴上下分布，表示实验数据离散度较小，具有可预测性，与实验数据的离散度（标准差）有关。

实验数据

由加味生化汤 6 个组分 ABCDEF 按 $L12(2^6)$设计，每组 5 只雌性小鼠，按 25 ml/kg 灌胃 7 天，前 3 天同时皮下注射已烯雌酚 1.8 mg/kg/d，7 天后取子宫烘干称重，记录 100g 体重的子宫干重(mg)，以对抗雌激素的子宫增重作用，数据为作用指数，数值大表示作用强[3]（表 5-6）。

表 5 两水平设置（mg/kg）

组分	1 水平	2 水平
A	24	0
B	15	0
C	9	0
D	3	0
E	3	0
F	30	0

表 6 实验设计与结果

配伍组	ABCDEF	下标表示法	实测值
1	111111	$A_1B_1C_1D_1E_1F_1$	7，8，8，8，9
2	111222	$A_1B_1C_1D_2E_2F_2$	7，7，7，8，8
3	112212	$A_1B_1C_2D_2E_1F_2$	8，8，8，8，9
4	122121	$A_1B_2C_2D_1E_2F_1$	7，7，7，7，8
5	122211	$A_1B_2C_2D_2E_1F_1$	7，7，7，8，8
6	121122	$A_1B_2C_1D_1E_2F_2$	6，6，6，7，7
7	211221	$A_2B_1C_1D_2E_2F_1$	7，7，7，8，8
8	212121	$A_2B_1C_2D_1E_2F_1$	6，7，7，8，8
9	212112	$A_2B_1C_2D_1E_1F_2$	7，7，8，8，8
10	221112	$A_2B_2C_1D_1E_1F_2$	6，6，7，7，7
11	221211	$A_2B_2C_1D_2E_1F_1$	7，7，8，8，8

12	222222	$A_2B_2C_2D_2E_2F_2$	6，6，7，7，7

水平 1 表示使用，2 表示不使用

数值计算

方差分析、双向单侧 t 检验、双侧 t 检验、药效预测及其偏倚评估，均由 DAS 软件完成（www.drugchina.net）。

结果

实验结果和方差分析

与阴性对照组（第 12 组）比较，多个配伍组结果较优（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）（表 7）。对表 7 中的实验数据进行方差分析，数据未经对数转换。表 8 中 ABCDEF 为各组分在两水平间的变异，$MS_e=0.332$。方差分析结果显示 B、E、F 三个组分的 P 值小于 0.05，但此处未考虑临床要求，仅具有统计学意义。

表 7 实验结果（n=5）

配伍组	Mean ± SD	RSD/%
1	$8.0 \pm 0.7^{**}$	8.8
2	$7.4 \pm 0.5^{*}$	6.8
3	$8.2 \pm 0.4^{**}$	4.9
4	7.2 ± 0.4	5.6
5	$7.4 \pm 0.5^{*}$	6.8
6	6.4 ± 0.5	7.8
7	$7.4 \pm 0.5^{*}$	6.8
8	7.2 ± 0.8	11.1
9	$7.6 \pm 0.5^{*}$	6.6
10	6.6 ± 0.5	7.6
11	$7.6 \pm 0.5^{*}$	6.6
12	6.6 ± 0.5	8.8

与第 12 组比较，$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$

表 8　方差分析结果

变异来源	DF	SS	MS	F	P
总变异	59	32.600			
A	1	1.067	1.067	3.212	0.079
B	1	6.667	6.667	20.076	0.000
C	1	0.267	0.267	0.803	0.374
D	1	1.067	1.067	3.212	0.079
E	1	4.267	4.267	12.848	0.001
F	1	1.667	1.667	5.019	0.029
误差	53	17.600	0.332		

药效学参数分析

复方药效学参数列于表 9，其中 $E_{mix}=0$，说明个体间变、不同组合间变异和相互作用引起的混合效应较小。E_D 为各组分对复方药效的贡献值，大小顺序为：BEFACD，也是重要程度排序。

不同 NEB 对双向单侧 t 检验结果影响很大，NEB 越窄，90%CI 越易超出。在表 10 中当 NEB 设为 95%-105%，6 个组分 90%CI 均超出此限，而设为 85%-115%时均落在 NEB 之内。说明 NEB 设定至关重要。

本研究 NEB 预设为 90% - 110%，组分 ABEF 为正性作用组分，其中组分 BE 的 90%可信区间超出预设的 NEB，发挥药效作用。方差分析提示，组分 F 虽然具有统计学意义（P=0.029），但其 90%可信区间落在 NEB 之内，说明作用较弱。组分 C 和 D 的 E_D 均为负值，为负性作用组分，其 90%可信区间没有超出 NEB，作用弱，尚未达到有临床认可的拮抗作用。

表 9 复方药效学模型参数

参数项	参数值	RSE	注释
E_{base}	6.600	0.037	基线效应
E_{mix}	0.000		混合效应
E_D(A)	0.267	0.558	贡献值
E_D (B)	0.667	0.223	贡献值
E_D (C)	-0.133	1.116	贡献值
E_D (D)	-0.267	0.558	贡献值
E_D (E)	0.533	0.279	贡献值
E_D (F)	0.333	0.446	贡献值
E_{max}	8.400		最大预测效应
E_{min}	6.200		最低预测效应
E_{cut}	0.761		有效界值
σ	0.546		残差标准差

表 10 NEB 与双向单侧 t 检验结果间关系

	A	B	C	D	E	F
E_D	0.267	0.667	-0.133	-0.267	0.533	0.333
90%CI (%)	100～107	106～113	95～102	93～100	104～111	101～108
NEB(%)						
95～105	P	P	N	N	P	P
90～110	F	P	F	F	P	F
85～115	F	F	F	F	F	F
80～120	F	F	F	F	F	F

混合效应 E_{mix} = 0.000; NEB: 无作用区间; P: 正性作用(positive action), E_D>0, CI 在 NEB 之外; N: 负性作用 (negative action), E_D<0, CI 在 NEB 之外; F: 无效或弱效(false), CI 在 NEB 之内

组方有效性判别

由于混合效应 $E_{mix} = 0$，如果组方的 E_D 之和大于 0.761（即 $\Sigma E_{Di} + E_{mix} > E_{cut}$），表示有效。但单组分有效性判断见表 10。图 1 将各单组分及两两组合对复方药效的贡献值进行了排列，贡献值为使用后效应变化值（E_D），即复方药效增加或减弱的大小，已扣除基线值（E_{base} =6.6）和混合效应（E_{mix}）；贡献值越大则越重要。组分 B 与 E 单用已有效（表 10），B 与 A、E 分别组方、AE 联用、EF 联用药效 ΣE_{Di} 均超过 0.761，即呈现有效，多味组合不再列举。

复方预测药效 E_{com}> E_{base} + E_{cut}=6.6+0.761=7.361 表示有效，图 2 为各组分以及两两组合的药效预测值，与以上判断不同的是加入了基线效应（E_{base}）。

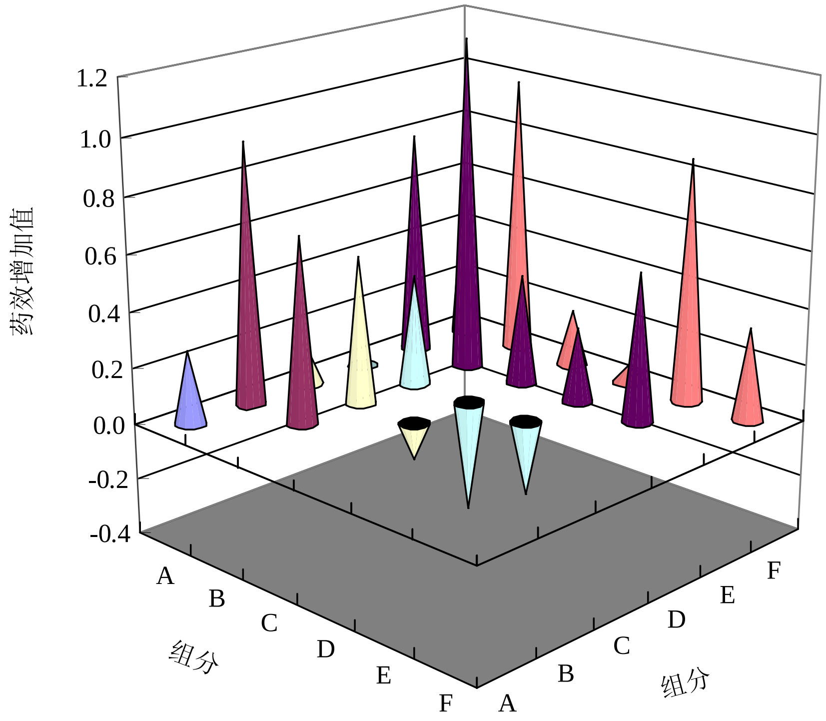


图 1　各组分单用和两两联作对复方药效的贡献值

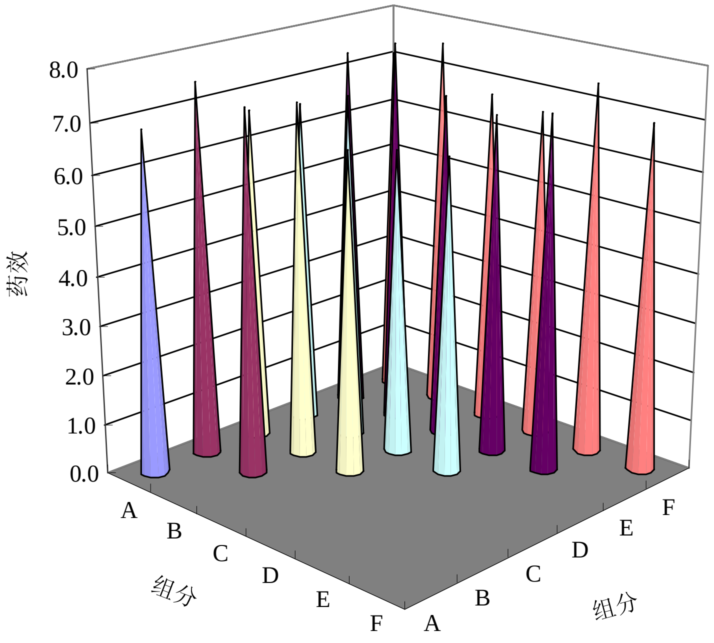


图 2　各组分单用和两两联用的效应预测

相互作用分析

不同组合相互作用性质不同，由此引起的交互效应也不同（表 11）。但本组方这类作用

较弱，Q 值均接近 0，全部使用时不表现为相互作用。

表 11 配伍组交互效应（E_{int}）和组分相互作用性质

ABCDEF	E_{int}	RSE	Q 值	注释
111111	0.000		0.0	相加
111222	0.000		0.0	相加
112212	0.130	1.538	0.0	相加
122121	0.260	0.769	0.0	相加
122211	-0.340	0.720	-0.1	拮抗
121122	-0.070	3.499	-0.1	拮抗
211221	-0.070	3.499	-0.1	拮抗
212121	-0.140	2.673	-0.1	拮抗
212112	0.060	4.082	0.0	相加
221112	-0.140	1.750	-0.1	拮抗
221211	0.260	0.942	0.0	相加
222222	0.000		0.0	相加

复方药效学模型评价

用实验数据对预测模型进行验证，结果由两种散点图表示。图 3 为 60 只动物实测值和预测值交点紧靠对角线上下分布，表明预测模型具有模拟能力；图 4 表示 60 只动物实测值与预测值相对误差（PE%）分布情况，各点紧挨过 0 点的横坐标轴；1 只动物为 22%，9 只动物为 10%-15%, 50 只动物≤ 10 %，表明本复方效应能够被模拟。

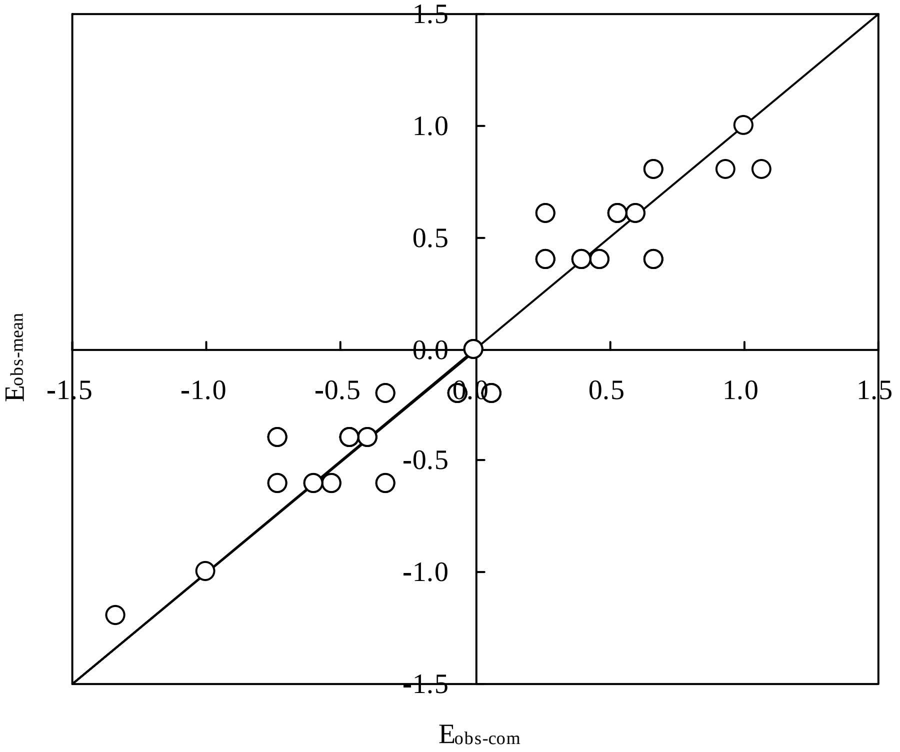


图 3 实测与预测差值（$E_{obs-com}$）和实测值与其组别均数差值（$E_{obs-mean}$）交点分布图（n=60）

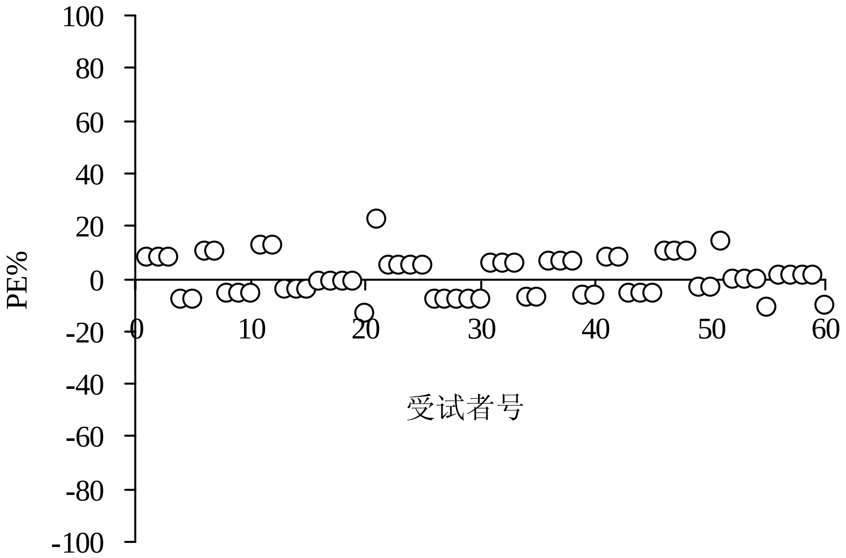


图 4　60 只小鼠 PE%值分布散点图
PE%=（实测值-预测值）/实测值×100

复方效应模拟

本复方的最大效应（E_{max}）组合为 $A_1B_1E_1F_1$，最小效应（E_{min}）组合为 C_1D_1，效应区间为 6.2-8.4。可根据式 5 对不同组合的药效进行预测（表 10）。

表 10　不同组合的药效模拟

组合方案	预期药效
$A_1B_1E_1F_1$	8.400 (E_{max})
C_1D_1	6.200 (E_{min})
A_1B_1	7.533
$A_1B_1C_1$	7.400
$A_1B_1C_1D_1$	7.133
$A_1B_1C_1D_1E_1$	7.667
$A_1B_1C_1D_1E_1F_1$	8.000
B_1C_1	7.133
$B_1C_1D_1$	6.867
$B_1C_1D_1E_1$	7.400
$B_1C_1D_1E_1F_1$	7.733
$C_1D_1E_1$	6.733
$C_1D_1E_1F_1$	7.067
D_1E_1	6.867
$D_1E_1F_1$	7.200
E_1F_1	7.467
$A_1B_1D_1$	7.267
$A_1B_1D_1E_1$	7.800
$A_1B_1D_1E_1F_1$	8.133

$A_1C_1E_1$	7.267
$A_1C_1E_1F_1$	7.600
$A_1D_1F_1$	6.933
$B_1C_1E_1$	7.667
$B_1C_1E_1F_1$	8.000
$B_1D_1F_1$	7.333
$C_1D_1F_1$	6.533

讨论

不论临床还是基础研究，药物相互作用的分析结论如果仅遵从统计分析，有时结论脱离临床实际。因此，应用双向单侧 t 检验进行药物相互作用分析，事先确定 NEB(θ_L, θ_U)，可获得更为可靠的结论。NEB 应在实验之前确定，FDA 推荐三种方法确定临床研究中 AUC 和 C_{max} 的 NEB[3]：先前的研究信息；相关专家共同讨论确定；使用默认值，即 80%-125%(数据经对数转换)。NEB 设置越宽，则越易得出两水平无差异的结论，反之亦然。

当 NEB 设置为 0 时，本例改为双侧 t 检验（式 2），结果（表 11）与方差分析（表 8）完全等同。

表 11　双侧 t 检验分析结果（$n_1=n_2=30$，$MS_e=0.332$）

	A	B	C	D	E	F
E_D	0.267	0.667	-0.133	-0.267	0.533	0.333
t 值	1.792	4.481	0.896	1.792	3.584	2.240
P 值	0.078	0.000	0.374	0.078	0.001	0.029

从可操作性角度，并非任选的正交设计均符合双向单侧 t 检验的要求，结合药效学实验的特点，配伍组不宜过多或过少，因此设计应按表 1-3 排列，保持“水平均衡，组合对称”，样本量较少。从设计上，3 个以上组分的复方难以采用固定序列设计，本法更有应用价值。

临床研究建议两个水平区分为：1 水平“使用”，2 水平“不使用”，临床前也可设计为 1 水平“高剂量”，2 水平“低剂量”，设计尽可能接近表 1-3 的排列，但 NEB 应正确设定，不宜太宽。其预测公式[5]也作变化：

$E_{Dji}=M_{ji} - M_{total}$

$E_{mix} = \Sigma(E_{obs} - E_{base} - \Sigma E_{Di})/N$

$E_{max}= E_{base} + \Sigma E_{Dji} + E_{mix}$　　($E_{ji} > 0$)

$E_{min}= E_{base} + \Sigma E_{Dji} + E_{mix}$　　($E_{ji} < 0$)

M_{total} 为所有受试者的平均药效；水平数 j=1,2；组分 i=1,2…m；E_{base} 为所有受试者的均数值($E_{base} = M_{total}$)；N 为所有受试者例数。

对于 3 组分复方的分析，因部分配伍组为单用组分，无交互效应，故计算略有不同，将另文发表。

实测值和预测值偏倚的评价用相关性分析尚有不足，本研究通过散点图表达预测的效果，即以其交点紧靠直角坐标系对角线上下分布，结合相对误差 PE%散点图，共同作为判据。只有预测偏倚被证实较小时，预测模型方可使用。

同一复方，选择不同指标进行分析，结果不一，对此指标为正性作用，而彼指标可能会是拮抗作用。因此复方分析应选择主要治疗学指标，且灵敏稳定，不能将一个指标的分析结果推广到另一指标。

阴性对照组与其他配伍组间差异，如果均无统计学意义，表示该复方无效或所选指标不合理，药物相互作用分析已无意义。阴性对照组的设立为药效的准确预测提供了基础值。

由于组分较多的复方，如作组分加减方式的拆方研究，工作量太大，或临床研究样本量受限，计算机模拟可提供有用的线索，这些结果可为进一步实验验证提供参考。

参考文献

郑青山，何迎春，杨娟，许羚，吕映华，刘红霞，孙瑞元. 药物相互作用分析与组方药效模拟：一个方法学研究. 中国药理学通报 2007;23(8): 1106-1112

权重配方法介绍

（此方法发表处：Zheng QS, Sun RY. Quantitative analysis of drug compatibility by weighed modification method. Acta Pharmacol Sin 1999; 20(11): 1043-1051）

1 研究背景

在药物治疗学领域，药物配方（或组方）规律的定量分析是复方新药研究的重要内容，也是临床联合用药的依据，同时又是中药方剂配伍规律研究的关键技术。由于药物治疗学研究主要从整体水平观察疗效，像人体试验或动物疾病模型试验，试验费时费力，代价昂贵，样本不宜过多。因此，以往处理多组份、多剂量、多比例的优选方法存在缺陷，难以在药物治疗学领域中应用。例如，3 药配方，每药 6 个剂量水平，从总共 18 个剂量水平中优选最佳配伍，如作全面分析，需 216 组实验，显然工作量过大；用正交设计，至少需 36 组，实践中也难以实施；对于配方均匀设计，据我们分析，配伍组达 11 组以上，方使各组内剂量呈均匀分布。这样会出现：（1）有效剂量范围内分组过细，各组剂量相近，组间量效关系不能显现；（2）试验误差的存在，常使多元回归方程的置信度不合格，从而无法获得结果；（3）所提供的结果常超出专业要求的范围。因此，从多组份、多剂量、多比例中确定最优化配方，并考虑药物间相互作用，一直无更好的方法。

本研究利用优化(或超级)拉丁方设计和均匀设计原理，并根据复方药物量效关系特点，规范实验设计，建立新的数据分析法，即权重配方法（the weighted modification method），试图为药物配方实验提供一种科学、高效和简便的手段。此外，根据尿囊素、地塞米松和甲硝唑 3 药配方的抗腹腔粘连作用，制作小鼠急性腹腔炎模型，观察该配方对腹腔炎性渗出液中 t-PA 活性的影响，用本法定量观察其组方规律。

2 方法

2.1 基本原理

配方中每个组份药各发挥不同的作用，我们可根据其剂量和联合效应的关系（即量效关系）来衡量其重要程度，如图 1 所示。量效关系明显者（如组份药 A），宜用大剂量；不明显者限量使用（如组份药 C）；无效（如组份药 D）或拮抗药（如组份药 B）不用。同时考虑药物间的相互作用（如组份药 D 对组份药 A 有协同作用，可考虑合用）。权重配方法就是通过合理的设计，显示各药在配方中的相对量效关系和相互作用，确定其在方中的重要程度，从而进一步调整其在配方中的剂量。

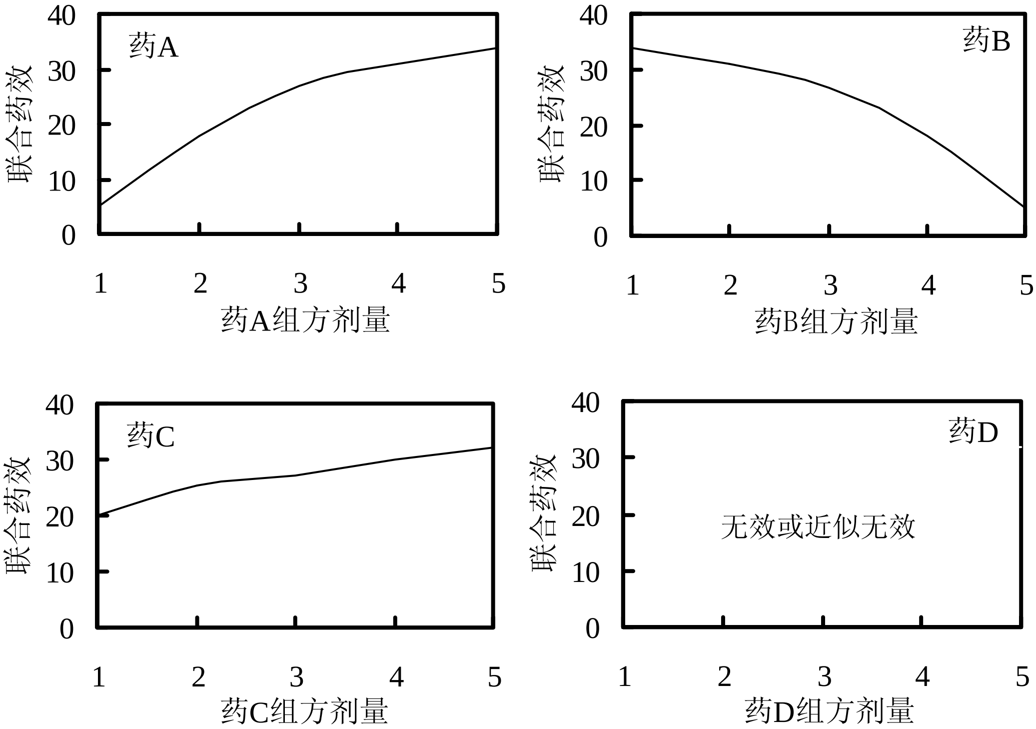


图 1　权重配方法原理示意图。由 ABCD 4 个组份药联合使用，每药可能发挥的作用不同：组份药 A 呈现明显的量效关系，药 B 呈现拮抗作用，药 C 无明显量效关系，药 D 无作用。

2.2　典型配方设计

利用优化拉丁方设计和均匀设计原理，规范实验设计。将配方的各药，划分为大小不同的 6 个剂量，再将这些剂量均匀地分布到 6 个配伍组。由于试验剂量水平较多，最大实测效应组(G_{Emax})已接近(或就是)最佳配伍结果。同时，各组的量效数据已能反映各药量效关系，从而判断各药在配方中的重要程度。再以 G_{Emax} 为基础，作配伍剂量的进一步优化：量效关系明显者，宜用大剂量；量效关系不明显者限量使用；无效或起拮抗作用的药物不用。剂量调整时应参考组份药间的相互作用(协同性或拮抗性)。在药物治疗学领域，除中药方剂研究外，配方组份药的数量通常为 2-3 个，一般不超过 6 个。根据专业知识，在足量(D_{max})至低效量（D_{min}）范围内，将各组份药分为大小不同的 6 个剂量，按表 1 构建出权重配方设计表。这种分布的均匀性已被数学家证明[4]（图 2）。根据药物量效特点和有效剂量范围，此表已能满足药物配方的实际需要。

表 1　权重配方设计表

组份药序号	1	2	3	4	5	6
选用列	A	C	B	F	D	E
列号	A	B	C	D	E	F
配伍组 1	剂量 1	剂量 2	剂量 3	剂量 4	剂量 5	剂量 6
配伍组 2	剂量 2	剂量 4	剂量 6	剂量 1	剂量 3	剂量 5
配伍组 3	剂量 3	剂量 6	剂量 2	剂量 5	剂量 1	剂量 4
配伍组 4	剂量 4	剂量 1	剂量 5	剂量 2	剂量 6	剂量 3
配伍组 5	剂量 5	剂量 3	剂量 1	剂量 6	剂量 4	剂量 2
配伍组 6	剂量 6	剂量 5	剂量 4	剂量 3	剂量 2	剂量 1

注：如第 2 个组份药，其序号就为 2，对应的"选用列"为 C，再根据"列号"C 下的剂量顺序来排列剂量。

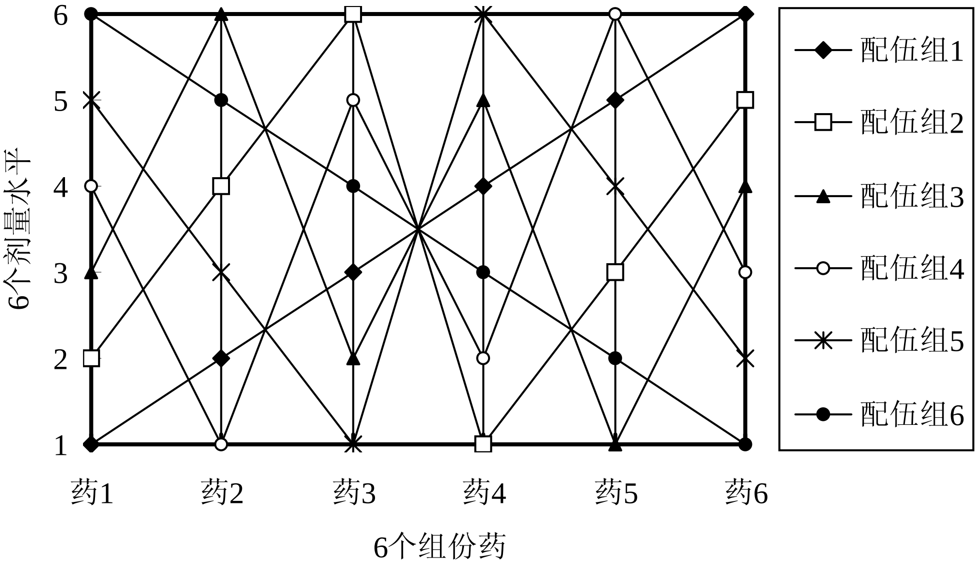


图 2　6 个组份药及其 36 个不同剂量水平在 6 个配伍组中的均匀分布

2.3　步骤

2.3.1　设计　根据组内的组份药数，从权重配方设计表（表 1）选择对应的列号，如有 4 药联用，那么第 1 个药选 A 列，第 2 药选 C 列，第 3 药选 B 列，第 4 药选 F 列。各列均有 6 个剂量水平，构成 6 个配伍组，每个药物的大小不同剂量均匀分布到各组。

本法在实际工作中可根据药物和实验特点灵活运用。例如，超过 6 个药作配方时，应先将几个药固定剂量作为背景，分批考察。如果某药的治疗剂量范围窄，可使连续的 2 个剂量水平相等，如剂量水平 1 和 2 相等，或剂量水平 5 和 6 相等。以下以 6 个剂量水平为例加以说明。

2.3.2　标化剂量(*d*)与药效　将各组份药 6 个配伍剂量分别除以其该药剂量的均数，得剂量的标化值(*d*)，实为剂量比例。此时药物的量效关系保持不变，却使结果易于判断。由于各药剂量水平多，且均匀分布到各配伍组中，因此其 G_{Emax} 就是最优或接近最优配伍组。该组的各药配伍剂量记作 $D_{Emax,i}$ (i=1,2…*N*，*N* 为配方中组份药物数)，如该组的药效为量反应数据时，其均数与标准差记作 $E_{max} \pm s_{max}$。

2.3.3　量效方程　配伍组剂量与效应(E)关系在座标中呈双曲线型，或处于双曲线的某一段。因此，式 1 能表示这种关系。量效方程拟合中，剂量采用标化剂量 *d*（即自变量），效应 E 用各组的群体值（如均数），而力求避免个体值对分析结果的影响。

$$\mathrm{E} = \mathrm{E}'_{\max} \cdot \frac{b_1 d_1 + b_2 d_2 \cdots + b_N d_N}{1 + b_1 d_1 + b_2 d_2 \cdots + b_N d_N} \qquad (1)$$

其中 *b* 是标化剂量 (*d*)系数，E'_{max} 是式 1 中所限定的最大配伍效应，代表在此范围内确定各组份药在联用中的重要程度。对于量反应的药效，$E'_{max} = E_{max} + s_{max}$；如质反应的药效（效应率），其最大反应率被确定为 100%，即 $E'_{max} = 1$。
将各配伍组的标化剂量 d_i 和 E 代入式 1 作曲线拟合，求出各药变量系数 *b* 。该系数大小反映各组份药的相对重要程度，实为一种权重指数，数值越大，其量效关系越明显。若权重指数较小，说明此药量效关系不明显，或无作用；若为负值且具有统计学意义，则说明起拮抗

作用（见后）。

2.3.4　药物相互作用的定性分析　以上分析中，我们将最大 *b* 的组份药视为组方中最重要的药（或称主药，d_j）。各药间的相互作用，重点以主药为参照，考察主药 d_j 与其他药 d_i 的交互剂量 d_jd_i ($=d_j\times d_i$)。将 d_j 和 d_jd_i 作为变量代入式 1，进行曲线拟合，获得权重指数。例如，有 3 药联用，已知药 3 为主药，因此，将 d_3，d_3d_1，d_3d_2 代入式 1 即可（得下式）。交互剂量的权重指数表示各药间相互作用的重要程度，其数值越大，说明其间协同作用越强；数值小，甚至呈负值，表示此相互作用不明显，或无相互作用，或起拮抗作用。

$$\mathrm{E}=\mathrm{E}'_{\max}\cdot\frac{b_1d_3+b_2d_1d_3+b_3d_2d_3}{1+b_1d_3+b_2d_1d_3+b_3d_2d_3}$$

2.3.5　权重指数(*b*)的置信度分析　用 *F* 检验，*F* 值计算用式 2。

$$F=\frac{\nu_2\times\sum(\mathrm{E}_{\mathrm{fit}}-\mathrm{E}_{\mathrm{mean}})^2}{\nu_1\times\sum(\mathrm{E}-\mathrm{E}_{\mathrm{fit}})^2} \qquad (2)$$

其中 E_{fit} 为 E 的量效方程拟合值，E_{mean} 为 E 的均数。自由度ν_2 配伍剂量组数减去 2；自由度ν_1 实为受检验的组份药个数，根据 *P* 值，ν_1 可作递减变化 (表 2)。以 3 药配方为例，此时ν_1 =3，根据式 2 计算 *F*，当 $F>6.59$ [$F_{0.05(3,4)}$]，表示 3 个权重指数(*b*)均有统计学意义($P<0.05$)；若 $F<6.59$，则ν_1 =2，重新用式 2 计算 *F*。当ν_1 =2，若 $F>6.94$ [$F_{0.05(2,4)}$]，可以肯定较大的 2 个权重指数 $P<0.05$；若 $F<6.94$，则ν_1 =1，即以 1 个变量重新计算 *F*。当ν_1 =1，如 $F>7.71$ [$F_{0.05(1,4)}$]，可以肯定最大的权重指数项 $P<0.05$；如 $F<7.71$，说明配方的 3 药均有作用，且重要程度的差别不大 ($P>0.05$)。交互剂量的权重指数也作同样的分析。

表 2　权重指数(*b*)统计检验表 (v_2=4)

v 递减	$F_{0.05\,(v1,\,v2)}$及其统计判断
ν_1 = 6	$F\geq6.16$ [$F_{0.05(6,4)}$]，绝对值较大的 6 个系数 $P<0.05$
ν_1 = 5	$F\geq6.26$ [$F_{0.05(5,4)}$]，绝对值较大的 5 个系数 $P<0.05$
ν_1 = 4	$F\geq6.39$ [$F_{0.05(4,4)}$]，绝对值较大的 4 个系数 $P<0.05$
ν_1 = 3	$F\geq6.59$ [$F_{0.05(3,4)}$]，绝对值较大的 3 个系数 $P<0.05$
ν_1 = 2	$F\geq6.94$ [$F_{0.05(2,4)}$]，绝对值较大的 2 个系数 $P<0.05$
ν_1 = 1	$F\geq7.71$ [$F_{0.05(1,4)}$]，绝对值最大的系数 $P<0.05$
ν_1 = 1	$F<7.71$ [$F_{0.05(1,4)}$]，所有系数均 $P>0.05$

注：6 药以上联用，$F_{0.05}$ 值可从相关统计学书籍中查得

2.3.6　优化组方　各组份药的剂量经过标化后，如果 *b* 的绝对值小于 0.01，尽管 $P<0.05$，也视其为 0，表示此组份相对作用很弱或无效。根据表 3 原则优化配伍剂量，重新组成一个或几个理论优化组方。

表 3　权重配方法的剂量优化原则

变量	$b(d_i)$	$b(d_id_j)$	P	优化剂量	说明
d_i	>0	–	<0.05	$D_{max,i}$	同图 1 中药 A
d_i	≤0	–	<0.05	$D_{min,i}$，或不用	同图 1 中药 B
d_i	任何值	–	>0.05	$D_{Emax,i}$	同图 1 中药 C

$d_i d_j$	–	>0	<0.05	$D_{max,i}$，$D_{max,j}$	d_i 和 d_j 间呈协同性
$d_i d_j$	–	≤0	<0.05	$D_{min,i}$，或不用	d_i 和 d_j 间呈拮抗性
$d_i d_j$	–	任何值	>0.05	$D_{Emax,i}$	d_i 和 d_j 间呈相加性

注：i, j =1, 2,…*N*（*N* 为联用药物数）；d_j 为主药（具有最大的权重指数），$d_i d_j$（= $d_i \times d_j$）为主药(d_j)和其他药(d_i)的交互剂量；如果一个药属于两种类型，它的优化剂量应在相应的范围内，如 D_{Emax}- D_{max}；D_{max} 即权重配方设计表中该药的足量；D_{Emax} 为 G_{Emax} 中该药的剂量。

2.3.7　确定性试验　原则上所有的理论结果均应通过进一步的实验证实，特别是理论优化组方没有被包含在已有的实验中时。可通过再一次实验，比较理论优化组方与 G_{Emax} 的药效，经统计分析确定各组的优劣。如两者间差异无显著性，表示组方可从理论优化组方和 G_{Emax} 中任选。

3　实验

3.1 材料

尿囊素，江苏省黄海制药厂，纯度 99.6%，批号：951108。甲硝唑，天津市河北制药厂产品，纯度 99.85%，批号: 951011。地塞米松，ROUSSEL UCLAF 产品，纯度 99.6%。均用 5%葡萄糖液(5%GS)配制成所需浓度的溶液，水浴溶解。组织纤溶酶原激活物(t-PA)活性测定试剂盒，福建太阳生物技术公司产品，批号: 980906。昆明种小鼠, 19-21g，雌雄各半，购自南京医科大学实验动物中心，合格证：苏动(质)第 97001 号。动物室和实验室温度为 20℃。

3.2　剂量设置

预试验结果提示，尿囊素，地塞米松和甲硝唑的足量分别为 400, 8, 400 mg/kg，用 0.8 的等比例，安排每个药的系列剂量，使各药的剂量范围在足量与弱效量之间。根据配方设计表（表 1)，尿囊素、甲硝唑和地塞米松分别选用 A, C, B 列，形成 6 个配伍剂量组 (表 4)。

表 4　尿囊素、地塞米松和甲硝唑的配方设计(mg/kg)

配伍组	尿囊素(D_1)	甲硝唑(D_2)	地塞米松(D_3)
1	131 (1)	205 (3)	3.3 (2)
2	164 (2)	400 (6)	5.1 (4)
3	205 (3)	164 (2)	8.0 (6)
4	256 (4)	320 (5)	2.6 (1)
5	320 (5)	131 (1)	4.1 (3)
6	400 (6)	256 (4)	6.4 (5)
$\bar{x}$	246	246	4.9
D_{max}	400	400	8.0
D_{min}	131	131	2.6

( )内为剂量水平的顺序号

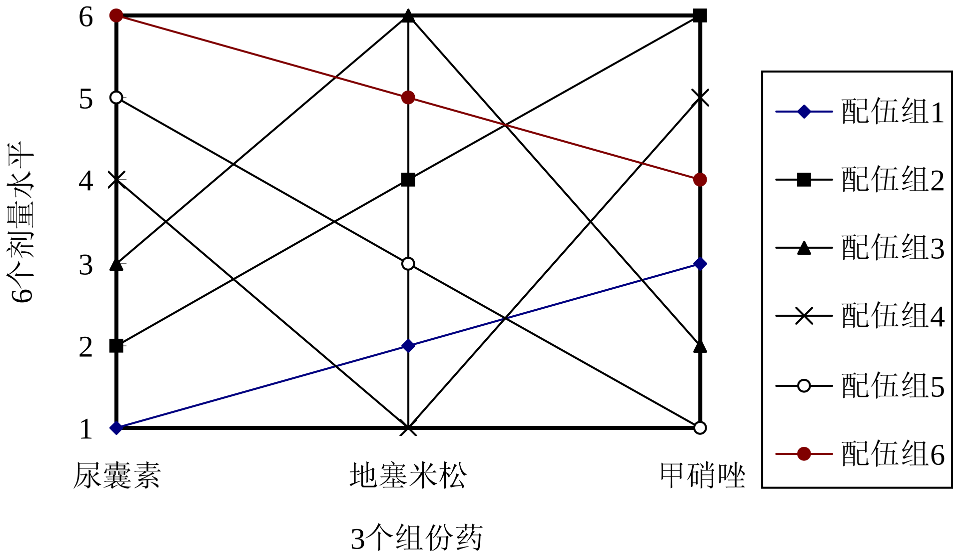


图 3　3 个组份药及其 18 个不同剂量水平在 6 个配伍组中的均匀分布

3.3　腹腔炎性渗出液中 t-PA 活性测定

小鼠禁食 8 h，随机分为 7 组，每组 10 只，雌雄各半。其中 6 组为不同配比的用药组，另 1 组为 5 %GS 对照组。各组用药(ip)容量均为 0.2 ml/10 g 体重。同时给予(ip) 1% 醋酸溶液（0.1 ml/10 g)。30 min 后脱颈椎处死，剪开腹腔，吸出腹腔液，再加生理盐水至 1 ml，置于 1/10 体积抗凝的硅化管中，3000 rpm 离心 10 min，取上清液 200 μl，按试剂盒操作方法，加等量经稀释的酸化液，保存于 2-8℃(不超过 12 h)。t-PA 测定按发色底物法，具体步骤按试剂盒说明书操作，由酶标仪(香港悦泰洋行公司产品)于 405 nm 处测定各孔内的光密度值(A_{405})。记录用药组各孔 A_{405} 与对照组 A_{405} 均值之差，即 t-PA 活性升高值（A_{405}↑)。

3.4　确定性试验

按与以上相同的实验方法观察相同的指标，比较理论优化剂量与 G_{Emax} 间的差别。

3.5　数据处理

所有的计算用计算机完成（见第三章 CoDrug 软件）完成。

4　结果

4.1　尿囊素、地塞米松和甲硝唑的不同配伍对小鼠腹腔炎性渗液中 t-PA 活性（A_{405}↑）的影响

各配伍组药效（A_{405}↑）强于 5%GS 组(P<0.05 或 P<0.01)（表 5)。

表 5　尿囊素、地塞米松和甲硝唑的标化配伍剂量(d)及其效应(E= $\bar{x}$)

配伍组	尿 +	甲 +	地	交互剂量			A_{405}↑ (×10)
	d_1	d_2	d_3	d_1d_2	d_1d_3	d_2d_3	($\bar{x}\pm s$, n =10)
1	0.533	0.833	0.671	0.444	0.358	0.559	0.25 ± 0.08
2	0.667	1.626	1.037	1.085	0.692	1.686	0.63 ± 0.26
3	0.833	0.667	1.627	0.556	1.355	1.085	0.84 ± 0.29
4	1.041	1.301	0.529	1.354	0.551	0.688	0.20 ± 0.08
5	1.301	0.533	0.834	0.693	1.085	0.445	0.79 ± 0.25

6	1.626	1.041	1.302	1.693	2.117	1.355	1.1 ± 0.5

d 为各配伍剂量除以其所在列剂量的均数，分别为 246，246，5.9 (见表 4)

4.2　尿囊素、地塞米松和甲硝唑在配伍中的重要程度

以 A_{405}↑为指标（表 5），第 6 组为最大效应组 G_{Emax}，$E'_{max} = E_{max} + s_{max}$ = 1.1+0.5=1.6。将全部 6 组的 d_1, d_2, d_3 及其 A_{405}↑ (E)，代入式 1, 经曲线拟合得 b_1=0.28，b_2=-0.49，b_3=1.00，量效方程为：

$$\mathrm{E_{fit}} = 1.6\frac{0.28d_1 - 0.49d_2 + 1.00d_3}{1 + 0.28d_1 - 0.49d_2 + 1.00d_3}$$

根据拟合结果，由式 2 和表 2 对权重指数作 *F* 检验：

$$\nu_1 = 3，F = \frac{4\cdot\sum(\mathrm{E_{fit}} - \mathrm{E_{mean}})^2}{3\cdot\sum(\mathrm{E} - \mathrm{E_{fit}})^2} = 3.913, F < F_{0.05}(6.59), P > 0.05。$$

$$\nu_1 = 2，F = \frac{4\cdot\sum(\mathrm{E_{fit}} - \mathrm{E_{mean}})^2}{2\cdot\sum(\mathrm{E} - \mathrm{E_{fit}})^2} = 5.870, F < F_{0.05}(6.94), P > 0.05。$$

$$\nu_1 = 1，F = \frac{4\cdot\sum(\mathrm{E_{fit}} - \mathrm{E_{mean}})^2}{1\cdot\sum(\mathrm{E} - \mathrm{E_{fit}})^2} = 11.740, F > F_{0.05}(7.71), P < 0.05。$$

即最大的权重指数项为 b_3d_3 ($1.00d_3$)，表示地塞米松在联用中的量效关系相对明显，为主药。而其他两药的量效关系不明显（图 4）即在联用中的重要性不如地塞米松。

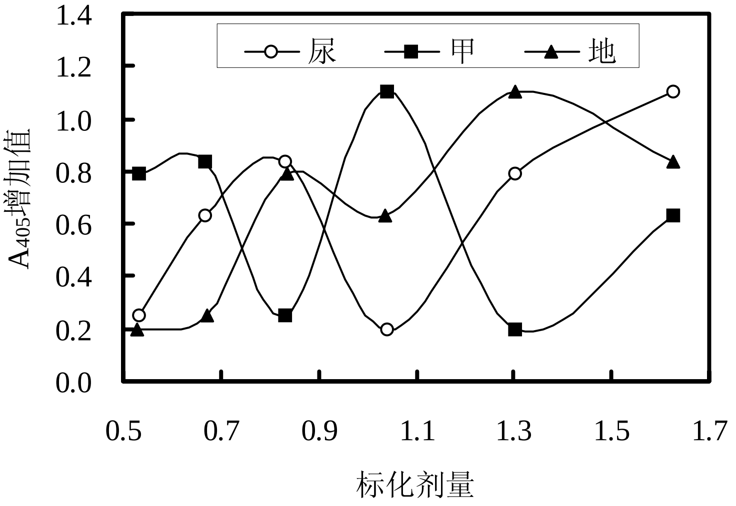


图 4　尿囊素、地塞米松和甲硝唑在联用中呈现的标化剂量与联用药效（×10）的关系

4.3　尿囊素、地塞米松和甲硝唑相互作用的定性分析

将 6 组的主药(d_3)和其交互剂量(d_1d_3,, d_2d_3)，以及药效 A_{405}↑ (E)代入式 1，d_1d_2 则不作考虑。

$$E_{fit}=1.6\frac{-0.17d_3+0.91d_1d_3+0.02d_2d_3}{1-0.17d_3+0.91d_1d_3+0.02d_2d_3}$$

计算同上，但只分析交互剂量，最大交互项 $0.91d_1d_3$（$P<0.05$）呈现量效关系（图 5），表明尿囊素（d_1）对地塞米松（d_3）具有协同性作用。不再分析此方程中主药的权重指数（-0.17）。

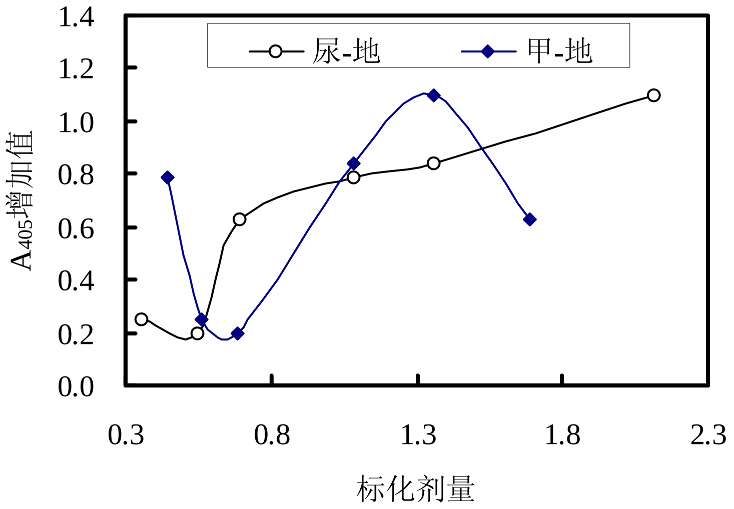


图 5　尿囊素、地塞米松和甲硝唑交互剂量（d_1d_3, d_2d_3）与联用药效（×10）的关系

4.4　尿囊素、地塞米松和甲硝唑配伍的剂量优化

见表 6。结果地塞米松选用 8 mg/kg，尿囊素为 400 mg/kg，甲硝唑为 256 mg/kg。

表 6　尿囊数、地塞米松和甲硝唑以 A_{405}↑为指标组方的剂量(mg/kg)优化. $^aP>0.05$, $^bP<0.05$.

组份	$b(d_i)$	$b(d_id_j)$	优化剂量	注释
尿囊数(d_1)	0.28^a	--	尿 400 (D_{Emax})	同图 1 中药 C
甲硝唑(d_2)	-0.49^a	--	甲 256 (D_{Emax})	同图 1 中药 C
地塞米松(d_3)	1.00^b	--	地 8.0 (D_{max})	主药，同图 1 中药 A
d_1d_3	--	0.91^b	尿 400 (D_{max})	尿囊数与地塞米松间有协同性
d_2d_3	--	0.02^a	甲 256 (D_{Emax})	甲硝唑与地塞米松间呈相加性

4.5 确定性试验

经实验进一步证实，理论优化配方作用强于 G_{Emax} 组（$P<0.05$），故实际优化组方为尿囊素 400 mg/kg + 甲硝唑 256 mg/kg + 地塞米松 8 mg/kg（表 7）。

表 7　确定性试验中两种组合剂量(mg/kg)对 A_{405}↑的影响（$\bar{x}\pm s$）

组　别	n	尿囊素 +	地塞米松 +	甲硝唑	A_{405}↑（×10）
G_{Emax}	10	400	6.4	256	1.0 ± 0.3
理论优化组方	10	400	8.0	256	1.3 ± 0.3*

*$P<0.05$（t 检验）

5 讨论

5.1 权重配方法的特点

1．本法是一高效的方法，组方优选一般仅需 6 组，就可初步得出结果。如条件许可，尽量另设 2-3 组进行确定性试验。表 8 充分显示的本法的优势。

表 8 多组份药物、多剂量水平时不同分析方法的比较（设每药分 6 剂量，每组 *n*=10）

组方药物数	全面分析		正交设计		权重配方法	
	组数	动物数	组数	动物数	组数	动物数
3	216	2160	36	360	6-10	<100
4	1296	12960	--	--	6-10	<100
5	7776	77760	--	--	6-10	<100
6	46656	466560	--	--	6-10	<100

2．在限定的多药物多剂量水平范围内，寻找最佳配伍，且结果符合专业要求。

3．能作药物相互作用的定性分析。

4．可确定各药组方中的重要程度。

5．由于确定性试验存在，使得本法的结果可靠。

5.2 应用中需注意的问题

1．量效方程计算时不宜用多元线性回归和逐步回归法，因为：（1）两法要求所获方程应通过 $P<0.05$ 的置信度检验，整体水平实验数据常常难以满足；（2）多元线性回归在拟合时其量效曲线变化为波浪线样过程，峰值后接谷值，因此有时药效数据稍有变化，会得到完全相反的结果；（3）通过求极值解得的最佳剂量常不合实际，如为负值，或一个极大值。

2．权重指数(b)仅反映各组份药相对的量效关系，药物系数小并非一定无效，有时只是作用强弱的不同。权重指数大小的比较仅限于在同一量效方程内进行，例如，每个组份药相互比较时，主药具有最大权重指数，但主药同其交互剂量再一次代入式 1 拟合时，有可能会变得很小，这时说明它的作用相对于交互剂量来说作用小。当权重指数在数值上彼此间相差很大时，只要置信度分析均示 $P>0.05$，就表示两者的重要程度相当，因为权重指数不是各组份药对联用效果的实际贡献值或贡献率。

3．本法所选的药效指标应较灵敏，且有较好的重复性，使均数具有代表性，各组变异系数应相差不大。因为本法主要考虑群体值，即均数，而力求避免个体值对分析结果的影响。如果是偏态数据，应改用调和均数或中位数，此时不宜作相互作用分析，以防结果无法解释。

4．由于实验误差的存在，预测性结果只能视为调整剂量的线索，而确定性试验是重要的。

5．尽可能另设阴性对照组(不用药组)，至少部分配伍组的药效应强于阴性对照组，否则失去分析的意义。对于中药方剂尚需同原方比较。6 个配伍组用方差分析理应有差别，否则也没有配方分析的必要，因为各组药效均相似，任用一组即可。

7．联用中所呈现的量效关系与单用时的量效关系可能不同，这是可以理解的。如药物对受体的竞争性协同或拮抗就是如此。

8．药物足量时已产生较大效应，为不可再增大的剂量，有时需预试验确定。

9．由于配方往往作用于多个指标，此指标呈拮抗作用，而彼指标可能起主导作用。例如，本研究如以抗菌作用为指标，则甲硝唑也许为主药。因此，增减配伍药物时应作全面考虑，最好能制定综合性指标。

10．效应用变化值较好，可提高数学模型的拟合效力。

11．对于临床试验，由于药物制型和规格已固定，给精确加减剂量带来困难。因此，在实际应用中，剂量设计并非像典型设计那样严格。

参考文献

Zheng QS, Sun RY. Quantitative analysis of drug compatibility by weighed modification method. Acta Pharmacol Sin 1999; 20(11): 1043-1051

药物相互作用反映曲面分析

一、研究目的

研究 CsA、SRL、MPA 三种药物单用和两两联用时对 CD25、CD28、CD54 和 IL2 的作用。

二、分析方法

1. 反应曲面方法

两两药物联用时，取每个实验组的均值为该组的药效，再用其相应的空白组药效减去该组药效即药效变化值，对变化值做反应曲面分析，得到两药相互作用特征及反应曲面方程的稳点，稳点可能是药效变化值的最大/最小/鞍值。

2. 分析软件

DAS 2.1.2

3. 缩写

缩写	说明
S	SRL 的剂量
C	CsA 的剂量
M	MPA 的剂量
S′	为进行反应曲面分析转换的 SRL 剂量
C′	为进行反应曲面分析转换的 CsA 剂量
M′	为进行反应曲面分析转换的 MPA 剂量
CD54′	CD54 变化值
CD25′	CD25 变化值

三、分析结果

1 CsA、SRL、MPA 单独使用

CsA 在 0-200nM（0/10/50/100/200nM）内随 CsA 增大 CD54、CD25 有下降趋势。但 CsA 等级设计太少不能说明药效有"S"形特征。CsA 和 CD28、IL2 没有相关性。

SRL、MPA 和 CD54、CD25、CD28、IL2 均没有相关性。

2 CsA、SRL、MPA 两两联合使用

2.1 CsA+SRL 联用对 CD54 影响的相互作用分析

CsA、SRL 联合使用后 CD54 的平均实测值及变化值见表 1、2。使用反应曲面方法进行分析，结果得方程：

$$CD54' = 13.301 + 1.057S' + 8.285C' + 0.446\,S'^2 + 0.021\,C' \times S' - 1.708\,C'^2$$

其中 $S'=(S-2.5)/2.5$；$C'=(C-105)/95$

当 S=-0.605、C=334.722 时得到该方程 CD54′的稳点（鞍点）22.666（图 1）。使用该试验数据无法得到 CsA+SRL 联用时 CD54 的最大/最小效应值。方程中 C′×S′的系数为+0.021（正值），因此 CsA、SRL 是协同效应，SRL 在效应中作用弱。图 1 提示，在联用时 CsA 呈现量效关系，SRL 作用较弱。

表 1 CsA+SRL 联用 CD54 平均值（n=5）

SRL（nM）	CsA（nM）				
	0	10	50	100	200

0	24.92	22.03	15.74	13.65	5.67
0.5	-	21.41	21.62	11.34	5.82
1	-	22.25	16.94	11.69	5.41
5	-	19.31	17.27	9.34	3.79

表 2 CsA+SRL 联用 CD54 变化值（n=5）

SRL（nM）	CsA（nM）			
	10	50	100	200
0	2.89	9.18	11.27	19.25
0.5	3.51	3.3	13.58	19.1
1	2.67	7.98	13.23	19.51
5	5.61	7.65	15.58	21.13

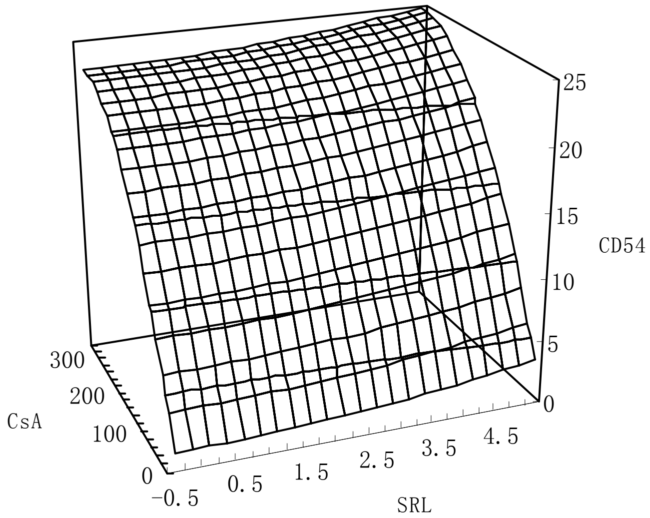


图 1 CsA+SRL 联用 CD54 变化值效果曲面图

2.2 CsA+SRL 联用对 **CD25** 影响的相互作用分析

CsA、SRL 联合使用后 CD25 的平均实测值及变化值见表 3、4。使用反应曲面方法进行分析，结果得方程：

$CD25'=1.378-0.447S'+4.979C' +4.495S'^2+0.863 C'\times S'-1.273 C'^2$，

其中 $S'=(S-2.5)/2.5$；$C'=(C-105)/95$。

当 S=2.166、C=286.503 时得到该方程 CD25′的稳点（鞍点）6.165（图 2）。使用该试验数据无法得到 CsA+SRL 联用时 CD25 的最大/最小效应值。方程中 C′×S′的系数为+0.863（正值），因此 CsA、SRL 是协同效应，但 CsA、SRL 对效应影响均弱。图 2 提示，在联用时 CsA 呈现量效关系，SRL 作用较弱。

表 3 CsA+SRL 联用 CD25 平均值（n=5）

SRL（nM）	CsA（nM）				
	0	10	50	100	200
0	23.52	20.26	19.98	18.98	13.76
0.5	-	23.37	27.36	17.92	15.77
1	-	27.52	21.14	18.78	17.63
5	-	24.86	23.64	16.36	14.22

表 4 CsA+SRL 联用 CD25 变化值（n=5）

SRL（nM）	CsA（nM）			
	10	50	100	200
0	3.26	3.54	4.54	9.76
0.5	0.15	-3.84	5.6	7.75
1	-4	2.38	4.74	5.89
5	-1.34	-0.12	7.16	9.3

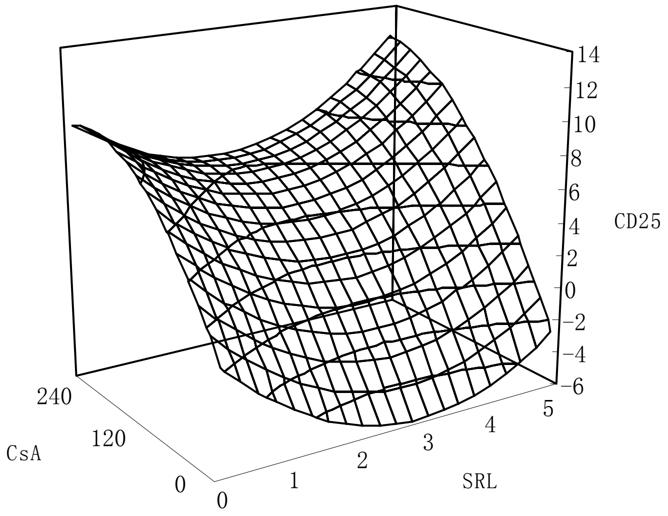


图 2 CsA+SRL 联用 CD25 变化值效果曲面图

2.3 CsA+MPA 联用对 **CD54** 影响的相互作用分析

CsA、MPA 联合使用后 CD54 的平均实测值及变化值见表 5、6。使用反应曲面方法进行分析，结果得方程：

$CD54' = 14.987 + 0.376M' + 7.105C' - 1.218M'^2 + 0.142C' \times M' - 2.475C'^2$，

其中 $M' = (M-200)/200$；$C' = (C-105)/95$。

当 M=247.652、C=241.994 时得到该方程 CD54′的稳点（最大值）为 20.154（图 3）。方程中 C′×M′的系数为+0.142（正值），因此 CsA、MPA 是协同效应，但 MPA 在效应中作用弱。

表 5 CsA+MPA 联用 CD54 平均值（n=5）

MPA	CsA				
	0	10	50	100	200
0	24.92	22.03	15.74	13.65	5.67
100	-	18.13	13.68	11.42	6.58
200	-	21.25	13.64	11.20	5.51
400	-	21.64	14.46	11.16	5.94

表 6 CsA+MPA 联用 CD54 变化值（n=5）

MPA	CsA			
	10	50	100	200
0	2.89	9.18	11.27	19.25
100	6.79	11.24	13.5	18.34

200	3.67	11.28	13.72	19.41
400	3.28	10.46	13.76	18.98

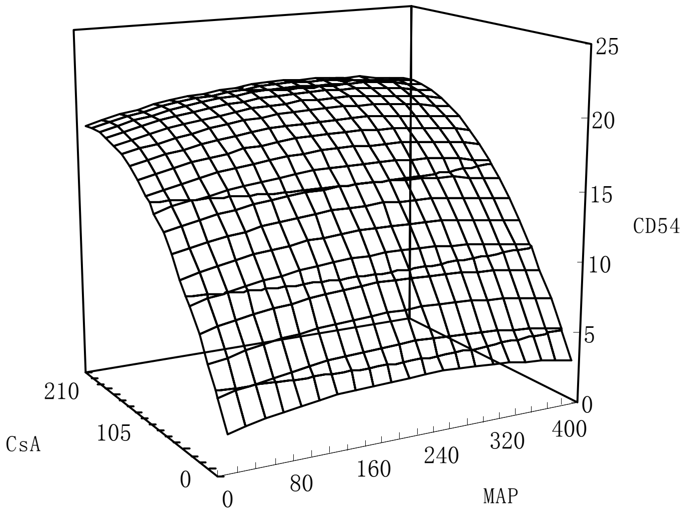


图 3 CsA+MPA 联用 CD54 变化值效果曲面图

2.4 CsA+MPA 联用对 **CD25** 影响的相互作用分析

CsA、MPA 联合使用后 CD25 的平均实测值及变化值见表 7、8。使用反应曲面方法进行分析，结果得方程：

$CD25'=5.970-0.330M'+2.432C' -0.202M'^{2} -0.004C'\times M'-1.012C'^{2}$

其中 $M'=(M-200)/200$；$C'=(C-105)/95$。

当 M=34.898、C=219.258 时得到该方程 CD25′的稳点（最大值）7.566（图 4）。方程中 C′×M′的系数为-0.004（负值），因此 CsA、MPA 是拮抗效应，MPA 在效应中作用弱。

表 7 CsA+MPA 联用 CD25 平均值（n=5）

MPA	CsA				
	0	10	50	100	200
0	23.52	20.26	19.98	18.98	13.76
100	-	21.01	17.97	18.52	17.83
200	-	21.76	17.08	17.59	16.43
400	-	22.13	20.46	17.27	16.59

表 8 CsA+MPA 联用 CD25 变化值（n=5）

MPA	CsA			
	10	50	100	200
0	3.26	3.54	4.54	9.76
100	2.51	5.55	5	5.69
200	1.76	6.44	5.93	7.09
400	1.39	3.06	6.25	6.93

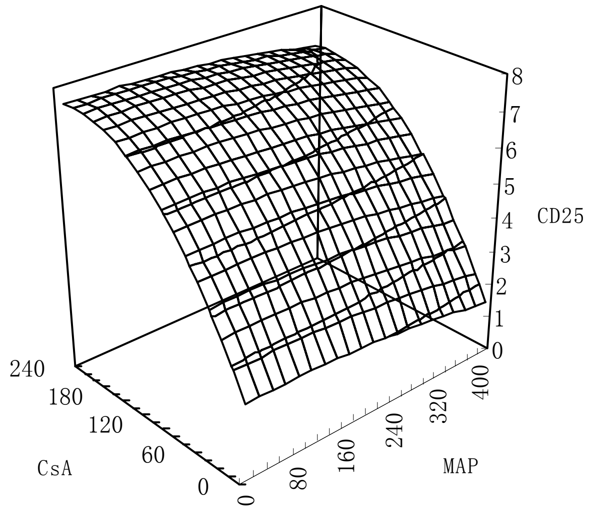


图 4 CsA+MPA 联用 CD25 变化值效果曲面图

四、讨论

本文反应曲面的鞍点（saddle point）指在最高反应曲面上的低点，呈现一种过渡状态，曲面图提示，鞍点两侧有寻找到极值的趋势。有鞍点时表明试验数据无法得到最大值，但可从曲面图中优选联用剂量。

通过反应曲面方程的两药乘积项系数的正/负值能定性的分析两药之间的关系。正值表示两药为协同作用，负值表示拮抗。 两药联用时药效受两药共同影响，应结合反应曲面方程和三维图综合分析，不能通过方程中的某项系数值大小来比较某药对药效的贡献。

本研究提示，指标不同，结论各异。例如，对A指标，两药联用呈协同，但在B指标可能是拮抗。如对多个指标同时进行分析，对相互作用的最终评价需要综合分析。

因为本试验剂量等级设计的少，无法按S型药效学模型（sigmoidal pharmacodynamic model）进行分析。

临床 EC50 计算

一、研究目的

研究某临床麻醉药血药浓度（C）与意识消失（E）关系，求出其 EC50 和 95%CI。

二、临床资料

由于伦理学因素，无效麻醉浓度不得反复试验，故形成多个浓度组别，每个组别受试者有限，无法按通常成组求算阳性率；而且在生物学上，受试者在低浓度时有效，更高浓度必然有效。临床数据见下表。

表 1 不同浓度的量效关系

血药浓度	受试例数	有效例数
0.3	3	1
0.5	4	1
0.7	6	2
0.8	4	2
0.9	5	3
1.0	6	4

1.25	6	4
1.5	5	5

将表1整理成表2,故总有例数之和为22例，代入DAS软件的数据见表3。

表2　整理数据

血药浓度	受试例数	有效例数	累积例数
0.3	3	1	1
0.5	4	1	2
0.7	6	2	4
0.8	4	2	6
0.9	5	3	9
1.0	6	4	13
1.25	6	4	17
1.5	5	5	22

表3 DAS软件计算用数据

血药浓度	总有效数	累积例数
0.3	22	1
0.5	22	2
0.7	22	4
0.8	22	6
0.9	22	9
1.0	22	13
1.25	22	17
1.5	22	22

三、计算方法

采用Bliss法(probit analysis)，使用DAS软件计算。

四、结果

DAS 软件输出结果见下，系统中 LD50 与 ED50 含义相同，其他输出结果此处略。

表 4　计算结果(本底阳性率为:0%)

参数	参数值
LD50	0.917
LD50 平均可信限(ML95)	0.083
LD50 95%可信限(L95)	0.837～1.004
LD50 平均可信限率(L95, %)	9.084
斜率(b)	5.583
Sb	0.847
X50	-0.038
Sx50	0.020

回归方程: Y(几率单位)＝5.21 + 5.583×Log(D)

五、讨论

1. 此法要求最高浓度（或剂量）应达到 100%有效，否则需继续加量。

2. 本底阳性率指非药物因素引起的阳性率，例如动物自然死亡，溶媒引起的阳性反应，症状的自愈等。